

ANNALES DE ZOOLOGIE ÉCOLOGIE ANIMALE

VOLUME 1

1969
TRIMESTRIEL

NUMÉRO 1



**INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE**

ZEA1.1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, PARIS-VII^e. Tél. : INV. 41-09.

Directeur général : J. BUSTARRET

Inspecteurs généraux : A. CAUDERON, G. DROUINEAU, R. FÉVRIER, P. MORNET, R. PÉRO

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : J. BUSTARRET

Annales agronomiques.

- M. HALLAIRE, Chef du Département de Bioclimatologie.
- S. HÉNIN, Chef du Département d'Agronomie.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

- R. MAYER, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes.

Annales de Phytopathologie.

- H. DARPOUX, Chef du Département de Pathologie végétale.

Annales de Zoologie - Écologie animale.

- E. BILIOTTI, Chef du Département de Zoologie.

Annales de Zootechnie.

- R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
- A.-M. LEROY, Professeur honoraire à l'Institut national agronomique.
- A. RÉRAT, Directeur de la Station de Recherche sur l'Élevage des Porcs, C.N.R.Z.

Annales de Technologie agricole.

- M. FLANZY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux.
- G. MOCQUOT, Chef du Département de Technologie des Produits animaux.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

- A. FRANÇOIS, Chef du Département de Recherches de Nutrition.
- C. THIBAUT, Chef du Département de Physiologie animale.

Annales de Physiologie végétale.

- Y. COÏC, Chef du Département de Physiologie végétale.

Annales des Sciences forestières.

- P. BOUVAREL, Directeur de la Station d'Amélioration des Arbres forestiers, C. N. R. F.
- J.-P. CHESNEAU, École nationale du Génie rural, des Eaux et des Forêts, 54 - Nancy.
- J. PARDÉ, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C. N. R. F.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

- J. POLY, Chef du Département de Génétique animale.

Recherches d'Économie et de Sociologie rurales.

- D. BERGMANN, Chef du Département d'Économie et de Sociologie rurales.

Recherches vétérinaires.

- P. MORNET, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Recherches d'Hydrobiologie continentale.

- R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
- C. THIBAUT, Chef du Département de Physiologie animale.
- R. VIBERT, Directeur de la Station d'Hydrobiologie continentale, 64 - Biarritz.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION :

Service des Publications de l'I. N. R. A., route de Saint-Cyr, 78 - VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

ANNALES DE ZOOLOGIE-ECOLOGIE ANIMALE

VOL. 1 N°. 1 19 69

Nom de l'emprunteur

Emprunté le

remis le

**ANNALES
DE
ZOOLOGIE
ÉCOLOGIE ANIMALE**

**VOLUME I
1969**



INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle, Paris-7^e

**ANNALES
DE
ZOOLOGIE
ÉCOLOGIE ANIMALE**

VOLUME 1

1969

NUMÉRO 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle, Paris-7^e

AVANT-PROPOS

Parues pour la première fois en 1913 pour diffuser les « mémoires et rapports présentés au Comité des Épiphyties sur les travaux et missions de 1912 », les *Annales du Service des Épiphyties*, devenues *Annales des Épiphyties*, ont publié depuis cette date les travaux effectués par les chercheurs des disciplines phytosanitaires de l'I. N. R. A. Ce secteur de recherche a pour objectif de fournir à l'agriculture des moyens de s'opposer à l'action des ennemis des plantes cultivées.

Depuis la création en 1946 du nouvel Institut national de la Recherche agronomique, le nombre de ses chercheurs s'est considérablement accru. Le seul Département de Zoologie compte à l'heure actuelle 90 scientifiques et une trentaine de techniciens supérieurs ; les autres disciplines phytosanitaires (Pathologie végétale, Phytopharmacie, Malherbologie) atteignent ensemble à peu près le même effectif. Les domaines de recherche se sont dans le même temps notablement étendus. Un seul périodique trimestriel ne pouvait donc plus à lui seul refléter les activités diverses de ces quatre services dont les méthodes de travail sont assez différentes. Quelques scrupules qu'on puisse éprouver à augmenter encore le nombre des périodiques scientifiques, il devenait indispensable de scinder les *Annales des Épiphyties* en plusieurs séries.

Les *Annales de Zoologie-Écologie animale* sont l'organe du Département de Zoologie. Le nombre et la diversité des problèmes qui se posent à ce dernier sont considérables et leur renouvellement est permanent.

— Le nombre des espèces animales qui doivent être combattues dans une région donnée est en constante augmentation du fait de l'introduction de nouveaux ravageurs originaires d'autres parties du monde par suite notamment de l'accroissement des échanges internationaux et de leur accélération.

— Des espèces n'ayant jusqu'ici causé aucun préjudice économique peuvent devenir nuisibles du fait même de l'activité humaine :

modification des moyens de production et des systèmes de culture,

effets à long terme des interventions de lutte (notamment de l'utilisation des pesticides chimiques),

exigences nouvelles de la production, de la commercialisation ou de la technologie alimentaire.

— Des espèces pour lesquelles des méthodes de lutte efficaces avaient été mises au point peuvent connaître un regain de nocuité notamment par l'apparition de formes résistantes aux pesticides chimiques.

— Un matériel végétal nouveau soumis aux attaques des ravageurs existant dans une région déterminée peut se montrer particulièrement sensible à leur action...

Dans le domaine de la lutte contre les ravageurs, le concept de « lutte intégrée » donne au chercheur un rôle fondamental puisqu'il lui faut :

établir le mécanisme des cycles de pullulation des ravageurs,
déterminer les facteurs en cause et étudier leurs interactions,
être capable d'agir sur l'évolution des écosystèmes de façon à maintenir les niveaux de population des organismes nuisibles (actuels ou potentiels) au-dessous du niveau des dégâts économiques (qu'il lui appartient également d'établir pour une grande part),
perfectionner les méthodes de lutte existantes et en promouvoir de nouvelles.

Les trois premiers points de ce programme correspondent essentiellement au développement des études écologiques qui ont toujours représenté une mission essentielle du Département. Parmi les travaux parus en France dans ce domaine, une contribution importante a été apportée par les chercheurs de notre Service. A l'heure où se crée dans notre pays une « Société d'Écologie », il était essentiel que le Département de Zoologie souligne, en l'inscrivant dans le titre de sa revue, le rôle qu'il a joué et qu'il entend continuer à jouer dans le développement de cette science.

Le perfectionnement des techniques de lutte implique non seulement la poursuite des efforts en cours mais aussi l'approfondissement de toutes les recherches de base pouvant conduire à la découverte et à la mise au point de méthodes nouvelles.

D'une façon générale, nous devons nous efforcer d'aménager la lutte chimique et d'augmenter la part qui revient aux méthodes utilisant les propriétés des êtres vivants. Les phénomènes d'antagonisme, d'attraction, de répulsion, d'effarouchement aussi bien que la manipulation des facteurs génétiques doivent être pris en considération. Ceci suppose donc un effort considérable dans le domaine de la physiologie et de l'éthologie.

Les *Annales de Zoologie-Écologie animale* accueilleront donc des travaux couvrant le domaine de recherche du Département tel qu'il vient d'être défini. La majeure partie des manuscrits publiés dans ces *Annales* sera constituée de travaux originaux exprimant des résultats nouveaux ou des procédés expérimentaux nouveaux. Une part sera cependant laissée aux mises au point bibliographiques si utiles au moment où le volume de la littérature ne permet plus de suivre facilement le développement de la pensée scientifique. Reflets des différentes activités du Service, nos *Annales* recevront avec faveur des contributions de valeur émanant de collègues français et étrangers.

E. BILIOTTI
Chef du Département de Zoologie

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE
AU COURS DE L'EMBRYOGENÈSE SUR L'ÉCLOSION
DES ŒUFS DE *DITYLENCHUS MYCELIOPHAGUS*
J.-B. GOODEY, 1958.

J.-C. CAYROL

Station de Recherches sur les Nématodes,
Centre de Recherches agronomiques de Provence, 06 - Antibes
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

Afin de mieux connaître l'influence de la température au cours de l'embryogenèse sur la mortalité de l'embryon et sur la durée de l'incubation, chez le nématode mycophage *Ditylenchus myceliophagus* (J.-B. GOODEY, 1958), plusieurs expériences ont été réalisées. Ces expériences consistaient à exposer des œufs âgés de 1, 2, 3 et 4 jours aux températures de — 9°C, 30°C, 37°C, 40°C et 60°C, pendant des durées de 1 heure, 2 heures, 4 heures et 8 heures.

Les résultats obtenus, en ce qui concerne la mortalité, montrent que les embryons sont toujours tués à 60°C. La température de 40°C paraît létale dans la plupart des cas, sauf pour des expositions pendant une heure où l'on note un très faible pourcentage de survie.

En ce qui concerne les autres conditions thermiques éprouvées, il apparaît que si l'on observe une forte mortalité chez les œufs de 1, 2 et 3 jours lorsque la température atteint 37°C ; on constate, par contre, que les œufs âgés de 4 jours, c'est-à-dire dans lesquels la larve est prête à éclore, manifestent une résistance bien supérieure aux températures extrêmes.

Concernant la durée de l'incubation, on note qu'aux températures extrêmes (hautes ou basses) le ralentissement du processus normal de développement est davantage marqué lorsque les œufs traités sont âgés de 4 jours.

Il apparaît donc que si les conditions thermiques extrêmes ont moins d'influence sur la mortalité des œufs quand la larve y est déjà bien formée, elles ont par contre, à ce stade, un rôle prépondérant sur la durée de l'incubation.

INTRODUCTION

Au cours des différentes opérations de préparation du compost destiné à la culture du champignon de couche, les températures atteintes, tant pendant la fermentation du fumier, que pendant le séjour en chambre de pasteurisation, sont toujours relative-

ment élevées et paraissent généralement suffisantes pour éliminer les larves et les adultes de la plupart des espèces mycophages. Par contre, leur action sur le développement des œufs de nématodes étant mal connue, nous avons entrepris une expérimentation destinée à préciser l'influence des conditions thermiques durant l'embryogenèse sur l'éclosion des œufs de *Ditylenchus myceliophagus* principale espèce mycophage de notre pays.

I. — DESCRIPTION DE L'EXPÉRIMENTATION

Pour obtenir des œufs de *D. myceliophagus* nous disposons 10 femelles sur une goutte de milieu gélosé déposée sur une lame de verre puis nous plaçons l'ensemble dans une boîte de Petri avec une faible quantité d'eau pour éviter la dessiccation du substrat. Vingt-quatre heures plus tard les femelles ayant pondu sur la gélose sont enlevées et l'on ne conserve que les œufs. Ceux-ci, au nombre moyen d'une vingtaine par goutte, peuvent alors être soumis à différentes conditions thermiques pendant des durées variées.

Précisons tout de suite les différentes étapes du développement normal d'un œuf de *D. myceliophagus* déposé sur une goutte de milieu gélosé.

— Le premier jour (fig. 1), l'œuf présente d'abord une apparence générale granuleuse, puis les divisions cellulaires s'effectuent jusqu'à la morula.

— Le second jour on aperçoit l'ébauche de l'embryon dont la morphologie reste encore très floue (fig. 2).

— A partir du troisième jour, la larve formée dans l'œuf apparaît visiblement et commence à remuer faiblement (fig. 3).

— Au cours du quatrième jour, la larve s'agite activement à l'intérieur du chorion et l'éclosion se produit souvent dès ce moment, ou le lendemain (fig. 4).

Dans notre expérience, on a exposé 100 œufs âgés de 1, 2, 3 et 4 jours pendant 1 heure, 2 heures, 4 heures et 8 heures, aux cinq températures suivantes : — 9°C, 30°C, 37°C, 40°C et 60°C.

Après chaque type de traitement les œufs étaient mis en incubation à la température de 20°C.

On a noté ensuite régulièrement la proportion d'œufs éclos, ainsi que la durée d'incubation selon le traitement.

II. — RÉSULTATS CONCERNANT L'INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA MORTALITÉ DES ŒUFS DE *D. MYCELIOPHAGUS*

Les résultats obtenus sont récapitulés dans les figures 5, 6, 7 et 8 qui permettent de faire les comparaisons suivantes :

- influence de l'âge des œufs avec des temps d'exposition et des températures de traitement identiques ;
- influence de la température de traitement avec des temps d'exposition semblables et des œufs d'âge identique ;
- influence du temps d'exposition avec des températures de traitement similaires et des œufs de même âge.

Notons immédiatement qu'à la température de 60°C les œufs sont toujours détruits quels que soient leur âge et la durée de l'exposition.

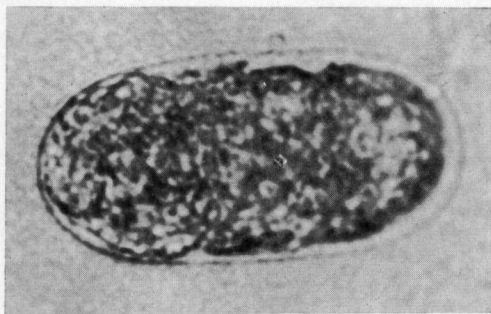


FIG. 1. — Œu de 1 jour

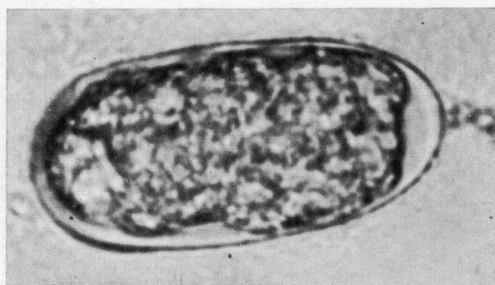


FIG. 2. — Œuf de 2 jours

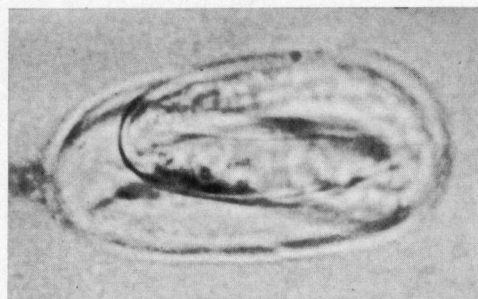


FIG. 3. — Œuf de 3 jours



FIG. 4. — Œuf de 4 jours

A. — Influence de l'âge des œufs exposés

— En ce qui concerne la température de -9°C , on voit que pour des expositions de 1 heure et 2 heures l'âge des œufs n'a pratiquement aucune influence, la mortalité restant toujours dans des limites très réduites, ou nulles, comparables à celles des conditions normales.

Oufs de 1 jour

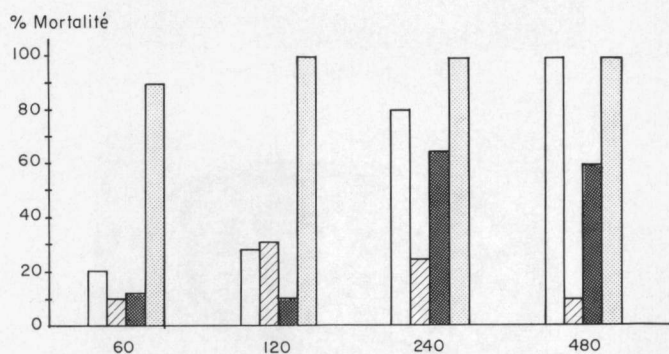


FIG. 5. — Influence du traitement des œufs de 1 jour sur la mortalité de l'embryon

Oufs de 2 jours

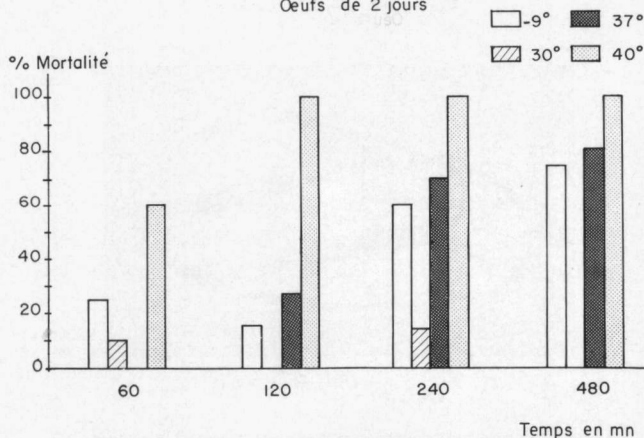


FIG. 6. — Influence du traitement des œufs de 2 jours sur la mortalité de l'embryon

Par contre, avec des durées de 4 heures et 8 heures la mortalité est très élevée pendant les 3 premiers jours, alors que les œufs de 4 jours, dans lesquels la larve bien formée remue activement, supportent beaucoup mieux le traitement.

— A 30°C , la mortalité reste toujours nulle ou très réduite quel que soit l'âge des œufs.

— A 37°C et pour des traitements durant 1 et 2 heures, la proportion d'œufs détruits reste très faible pendant les trois premiers jours et devient nulle pour les œufs de 4 jours qui semblent beaucoup moins sensibles. Pour des durées d'exposition

de 4 et 8 heures la mortalité augmente considérablement pour des œufs de 1, 2 et 3 jours, alors que ceux âgés de 4 jours manifestent là encore une résistance nettement supérieure.

— A 40°C, la mortalité est presque toujours totale. Seule l'exposition durant une heure permet la survie d'un très faible pourcentage d'œufs et ceci quel que soit l'âge.

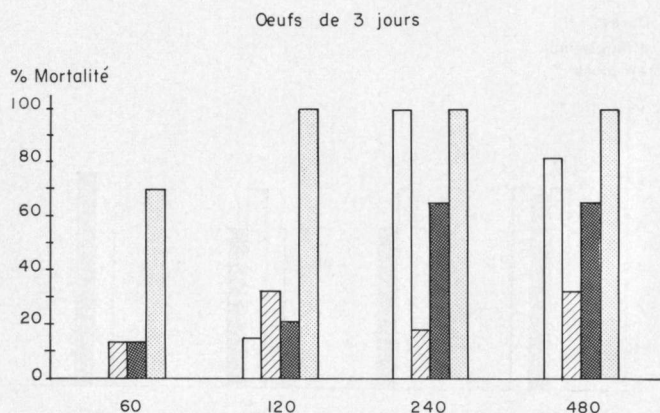


FIG. 7. — Influence du traitement des œufs de 3 jours sur la mortalité de l'embryon

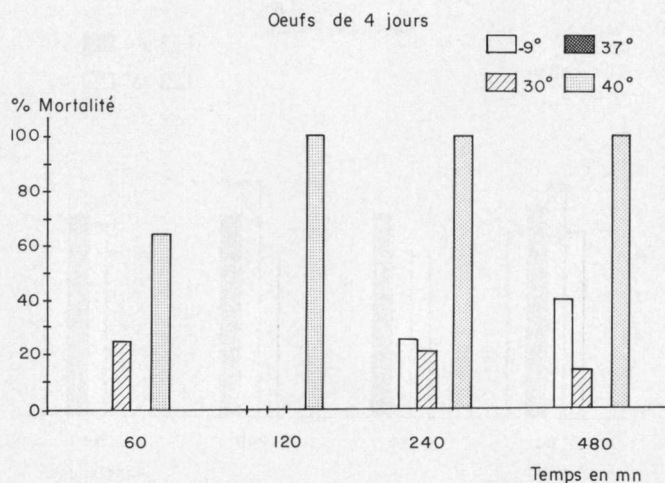


FIG. 8. — Influence du traitement des œufs de 4 jours sur la mortalité de l'embryon

B. — Influence de la température de traitement

— Quel que soit l'âge des œufs, on voit que pour des traitements durant 1 ou 2 heures, la mortalité est très faible à toutes les températures sauf à 40°C où le pourcentage de survie est nul ou extrêmement faible.

— Avec des expositions de 4 heures et 8 heures, nous constatons que pour les œufs de 1, 2 et 3 jours la mortalité augmente régulièrement à partir de 30°C atteignant

environ 70 p. 100 à 37°C et 100 p. 100 à 40°C. A — 9°C elle est toujours considérable. En ce qui concerne les œufs de 4 jours, ils paraissent résister davantage, aussi bien aux températures basses qu'aux températures élevées et il faut atteindre 40°C pour que les facultés de survie soient affectées.

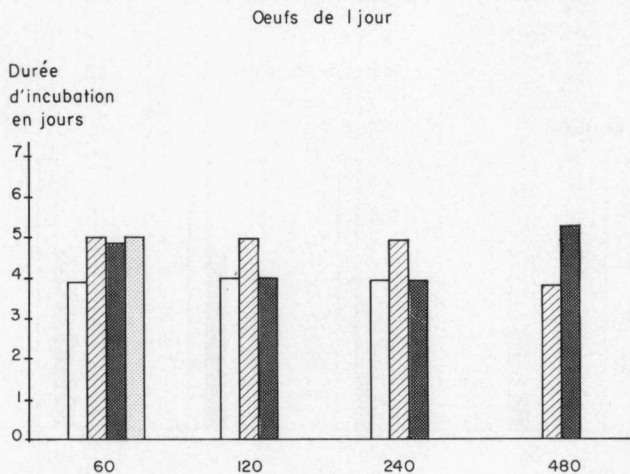


FIG. 9. — Influence du traitement des œufs de 1 jour sur la durée de l'incubation

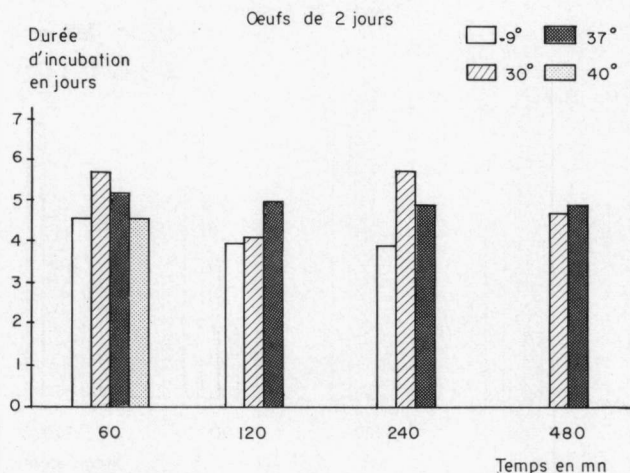


FIG. 10. — Influence du traitement des œufs de 2 jours sur la durée de l'incubation

C. — Influence du temps d'exposition

— En ce qui concerne les œufs âgés de 1, 2 et 3 jours, on constate que pour toutes les températures assez hautes à partir de 37°C et pour les températures basses, de l'ordre de — 9°C, la mortalité augmente dans l'ensemble avec le temps d'exposition.

— Pour les œufs de 4 jours à l'intérieur desquels la larve est déjà bien formée et très active, on remarque que la mortalité, d'ailleurs très faible, est indépendante de la

durée du traitement, sauf à 40°C où une faible survie se manifeste pour une exposition d'une heure, alors que les œufs sont tous détruits lorsqu'on les traite pendant 2, 4 et 8 heures.

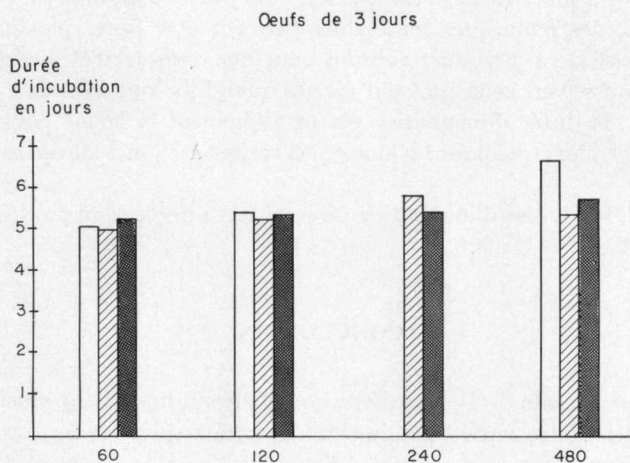


FIG. 11. — Influence du traitement des œufs de 3 jours sur la durée de l'incubation

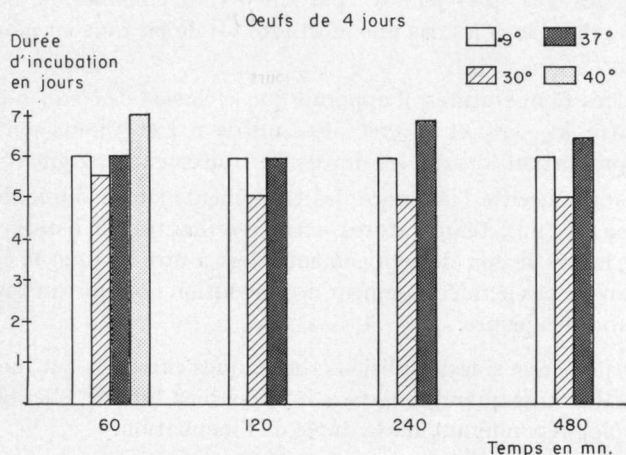


FIG. 12. — Influence du traitement des œufs de 4 jours sur la durée de l'incubation

III. — RÉSULTATS CONCERNANT L'INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA DURÉE DE L'INCUBATION

Outre son influence sur la mortalité de l'embryon, la température affecte également la durée de l'incubation selon les traitements auxquels sont soumis les œufs.

Les figures 9, 10, 11 et 12 récapitulent les résultats obtenus.

En ce qui concerne la température la plus basse (-9°C), on constate que quelle que soit la durée du traitement, le temps nécessaire à l'incubation est légèrement allongé (approximativement 6 jours) quand les œufs exposés ont 3 et 4 jours, alors qu'il n'est que de 4 jours environ lorsque les œufs traités sont âgés de 24 et 48 heures.

— A 40°C , des remarques semblables peuvent être faites puisque la durée de l'incubation passe de 4 à 5 jours environ pour des œufs traités lorsqu'ils ont 24 et 48 heures à 7 jours pour ceux qui sont traités quand ils sont âgés de 4 jours.

— A 37°C , la durée d'incubation est pratiquement la même pour les œufs âgés de 1, 2 et 3 jours, alors que pour les embryons traités à 4 jours elle augmente sensiblement.

— A 30°C , les durées d'incubation ne semblent affectées, ni par la durée du traitement, ni par l'âge des œufs.

CONCLUSION

L'exposition d'œufs de *D. myceliophagus* d'âges différents, à plusieurs températures, durant des temps variés, conduit aux résultats suivants :

— en ce qui concerne la mortalité des embryons, les œufs âgés de quatre jours, c'est-à-dire prêts à éclore, supportent des conditions thermiques défavorables beaucoup mieux que les œufs plus jeunes ; par ailleurs, on constate qu'une température de 40°C entraîne dans tous les cas une mortalité totale ou tout au moins très importante ;

— aux autres températures, il apparaît que l'éclosion des œufs n'est pas affectée à 30°C ; par contre, à -9°C et $+37^{\circ}\text{C}$, les œufs de 1, 2 et 3 jours sont détruits dans une très forte proportion lorsque les durées de traitement atteignent 4 et 8 heures ;

— en ce qui concerne l'influence des traitements sur la durée de l'incubation, nous remarquons qu'aux températures extrêmes (hautes ou basses) l'embryon est plus sensible à la fin de son développement, c'est-à-dire lorsque la jeune larve est déjà formée. Dans ce cas le ralentissement de l'évolution normale est toujours plus net que chez les embryons jeunes.

Il apparaît donc que si les conditions thermiques extrêmes ont moins d'influence sur la mortalité des œufs quand la larve y est déjà bien formée, elles ont, par contre, à ce stade, un rôle prépondérant sur la durée de l'incubation.

Reçu pour publication en novembre 1968.

SUMMARY

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE DURING EMBRYOGENESIS ON THE HATCHING OF *DITYLENCHUS MYCELIOPHAGUS* EGGS.

Eggs of 1, 2, 3 and 4 days of the mycophagous nematode *Ditylenchus myceliophagus* (J.-B. GOODEY, 1958), have been exposed during 1 hour, 2 hours, 4 hours and 8 hours to the following temperatures : -9°C , 30°C , 37°C , 40°C and 60°C .

At 60°C all the embryos are killed.

At 40°C death is quite the rule. However when exposed one hour a very weak percentage of the embryos can outlive.

Under different thermic conditions, most of the eggs of 1, 2 and 3 days are killed at 37°C but the eggs of 4 days show a far greater endurance.

As for incubation, either at the highest or at the lowest temperatures the slowing down of the normal process of growth is far more remarkable when the eggs considered are 4 days old.

It is thus clear that the highest and lowest thermic conditions are far less dangerous for the eggs when the larva is still well made up. On the other hand, at this point of their development they have quite an outstanding part as for the period of incubation.

LES ENTOMOPHAGES DE *PARLATORIA BLANCHARDI* TARG. DANS LES PALMERAIES DE L'ADRAR MAURITANIEN

I. — ÉTUDES BIOLOGIQUES ET ÉCOLOGIQUES PRÉLIMINAIRES.
PERSPECTIVES D'ACCLIMATATION DE NOUVEAUX PRÉDATEURS *Coccinellidae*

G. IPERTI, Y. LAUDÉHO

Station de Recherches de Lutte biologique et de Zoologie,
Centre de Recherches agronomiques de Provence, 06 - Antibes
Institut national de la Recherche agronomique
Institut français de Recherches fruitières d'Outre-Mer (I. F. A. C.),
6, rue du Général-Clergerie, 75 - Paris (16^e)

SOMMAIRE

La Cochenille *Parlatoria blanchardi* TARG. est un ravageur important des palmiers-dattiers et son rôle économique est particulièrement grand dans la région de l'Adrar (Mauritanie). Des recherches ont été entreprises pour mettre au point des méthodes de lutte biologique contre cet insecte. Le présent mémoire rend compte des travaux préliminaires effectués dans ce but : étude des conditions climatiques existant dans la palmeraie, évaluation du taux d'infestation et examen des facteurs qui le conditionnent, inventaire de la biocénose de *P. blanchardi*. La biologie des principaux ennemis naturels ainsi que leur efficacité réelle dans la réduction des populations de Cochenilles sont étudiées. L'insuffisance notoire du rôle économique joué par ces ennemis naturels conduit à envisager la recherche et l'introduction de nouveaux prédateurs.

I. — INTRODUCTION

La Cochenille *Parlatoria blanchardi* TARG., sans doute originaire de la Mésopotamie, est très fréquemment rencontrée dans la zone du palmier-dattier dont elle est un ravageur important.

Selon la contrée considérée, les entomophages parviennent parfois à la combattre efficacement comme dans le Sud-Constantinois (Algérie). Par contre, le plus souvent, les ennemis naturels jouent un rôle économique notoirement insuffisant, comme dans les palmeraies de l'Adrar (Mauritanie).

Aussi, en accord avec le Gouvernement mauritanien et avec l'aide financière du Comité français de l'Organisation pour la Campagne mondiale contre la Faim et du Secrétariat d'État à la Coopération, l'I. F. A. C. a-t-il été chargé d'entreprendre les expérimentations indispensables à la mise au point d'une intervention bio-écologique destinée à combattre les pullulations de *P. blanchardi*. Pour cette opération, l'I. F. A. C. a sollicité la caution de l'O. I. L. B. ⁽¹⁾, et demandé à l'I. N. R. A. de servir de conseiller scientifique et d'approvisionner la région d'Atar en prédateurs sains, multipliés dans une installation de quarantaine de la Station de Recherches de Lutte biologique et de Zoologie d'Antibes.

Le programme de travail comporte les étapes suivantes :

- étude du complexe biocénotique de *P. blanchardi* dans les palmeraies de l'Adrar,
- recherche de ses prédateurs (Coccinelles en particulier) dans le Moyen-Orient,
- expédition des entomophages à Atar,
- multiplication de ces derniers à proximité des lieux mêmes de lâcher,
- libération des insectes utiles dans les palmeraies,
- contrôle de leur présence et de leur efficacité.

La mise en place d'une telle opération nécessite initialement l'étude approfondie des espèces entomophages indigènes liées à la présence de *P. blanchardi*.

La région d'Atar offre un vaste champ d'expérimentation où tous les éléments restent à définir. En effet, à ce jour, les seuls renseignements connus sur les ennemis naturels de *P. blanchardi* portent soit sur des régions d'Afrique du Nord (BALACHOWSKY, 1925 et 1926 ; CALCAT, 1959 ; MARTIN, 1959 ; SMIRNOFF, 1957) soit sur d'autres pays (KEHAT, 1964, 1967 ; KEHAT et SWIRSKI, 1964).

Les résultats obtenus par ces différents auteurs ne peuvent pas s'appliquer directement à la région d'Atar.

Ainsi, parallèlement au transfert d'insectes utiles en provenance du Moyen-Orient (foyer présumé de *Parlatoria blanchardi*), il importait d'entreprendre une étude portant sur : les conditions climatiques de la palmeraie, l'inventaire de la faune entomophage de *P. blanchardi*, la biologie et l'écologie des parasites et des prédateurs, les facteurs qui limitent la multiplication des ennemis naturels de la Cochenille.

Le présent travail s'emploie à définir le complexe biocénotique dans lequel *P. blanchardi* évolue dans l'Adrar. Il synthétise les résultats obtenus à ce jour dans la réalisation de la première étape du programme de travail défini plus haut.

II. — CLIMAT DE LA RÉGION DE L'ADRAR

Les palmeraies de l'Adrar mauritanien s'étirent sur une cinquantaine de kilomètres en bordure de cours d'eau le plus souvent à sec (fig. 1).

⁽¹⁾ O. I. L. B. Organisation internationale de Lutte biologique.

Elles végètent dans un pays soumis à un climat strictement désertique caractérisé par de fortes températures moyennes pendant toute l'année, une hygrométrie relative moyenne très basse et une courte saison des pluies.

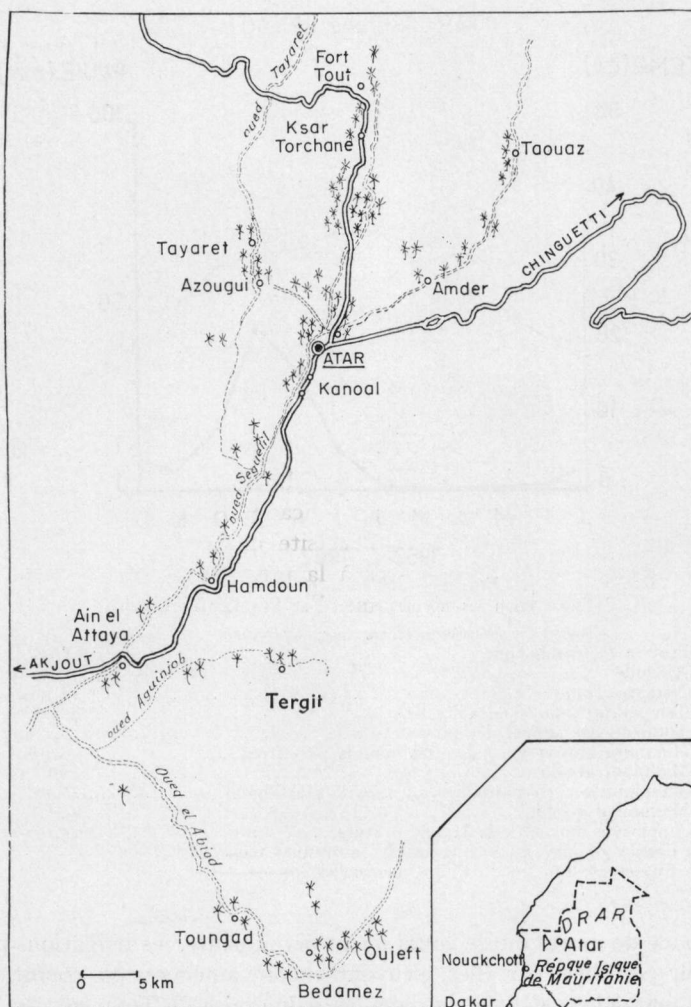


FIG. 1. — Carte des principales palmeraies de l'Adrar

Le diagramme climatique tracé suivant les données du *Weltatlas* de WALTER et LIETH (1960) donne une idée satisfaisante du climat général (fig. 2).

Par contre, il fallait préciser les conditions microclimatiques particulières aux palmeraies. On note en général dans ces dernières des températures légèrement inférieures à celles diffusées par l'Office météorologique mauritanien (1 à 2°C) et des hygrométries sensiblement plus élevées (10 à 20 p. 100 HR).

Selon la taille du palmier on observe quelques variations. La température au niveau des rejets est inférieure à celle qui règne dans la couronne, par contre l'hygro-

métrie est plus forte. On peut supposer que les insectes trouvent en différents points du palmier des abris où les conditions microclimatiques sont favorables à leur survie pendant les saisons chaudes et froides.

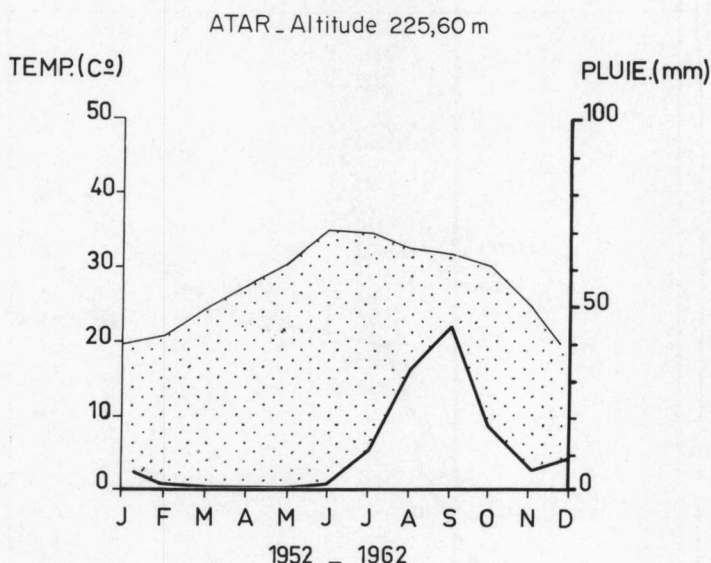


FIG. 2. — *Climagramme d'Atar*
(Tracé selon les normes fixées par WALTER et LIETH)

Renseignements complémentaires

a) Station météorologique	ATAR
b) Altitude	225,60 m
c) Nombre d'années d'observation	11 ans
d) Température moyenne annuelle	27,96°C
e) Total moyen annuel des pluies	128,7 mm
f) Minimum moyen journalier du mois le plus froid.....	6,4°C
g) Minimum absolu.....	2°C
h) Maximum moyen journalier du mois le plus chaud	46,4°C
i) Maximum absolu.....	48°C
j) Amplitude moyenne de la température	15,1
Courbe en trait fin : températures moyennes mensuelles (———)	
Courbe en trait gras : Pluies mensuelles (———)	

La présence de mares ou de cours d'eau permanents, les irrigations périodiques pratiquées sur certaines parcelles, peuvent encore améliorer ces conditions comme dans la zone maraîchère d'Atar ou dans les palmeraies de Toungad, de Tout et de Tergit.

III. — INVENTAIRE DE LA FAUNE ENTOMOPHAGE DE P. BLANCHARDI DANS LES PALMERAIES DE L'ADRAR

Il porte à la fois sur des parasites et des prédateurs récoltés directement dans les palmeraies et sur des insectes capturés au piège lumineux. Il comprend à ce jour les espèces suivantes :

NÉVROPTÈRES : 3 espèces au moins dont 2 *Chrysopidae* (en cours d'identification)

COLÉOPTÈRES : *Nitidulidae* *Cybocephalus* sp.

Coccinellidae *Pharoscymnus anchorago* F. (partout)

Pharoscymnus semiglobosus KARSCH.

(exclusivement à Tougad)

Pharoscymnus ovoideus hamifer SMITH.

(exclusivement à Tougad)

Scymnus africanus W. S. F.

(exclusivement à Tougad)

Exochomus nigripennis E. R.

HYMÉNOPTÈRES : *Aphelinidae* *Aphytis mytilaspidis* LE BARON

ACARIENS : En cours d'identification.

Cette liste appelle deux remarques :

1. les principaux entomophages récoltés dans toutes les palmeraies de l'Adrar sont deux prédateurs : *Ph. anchorago* (*Coccinellidae*) et *Cybocephalus* sp. (*Nitidulidae*).

Les Névroptères n'interviennent qu'occasionnellement ;

2. la palmeraie de Tougad située dans une région très particulière, à proximité d'une mare permanente, recèle un nombre d'espèces entomophages beaucoup plus important que celui des autres palmeraies de l'Adrar.

IV. — BIOLOGIE DES PRINCIPAUX ENTOMOPHAGES DE P. BLANCHARDI

Les deux prédateurs principaux font l'objet d'une étude biologique approfondie.

a) *Pharoscymnus anchorago* F.

Des élevages de *Ph. anchorago* effectués en laboratoire (à 32°C environ et 40 p. 100 HR) et alimentés avec *P. blanchardi* ont permis d'obtenir certains renseignements sur :

— la nombre et la durée des stades préimaginaux :

incubation des œufs	4 jours
1 ^{er} stade.....	2 à 3 jours
2 ^e stade	2 à 3 jours
3 ^e stade	3 jours
4 ^e stade	4 jours
nymphose	3 à 4 jours

— la longévité des adultes : elle dépasse généralement un mois et varie de 22 à 67 jours ;

— leur voltinisme : *Ph. anchorago* développe plusieurs générations par an ; en moyenne une par mois, excepté pendant la période froide où l'on note un ralentissement marqué de leur activité ; durant cette époque la longévité des adultes atteint 120 jours ;

— *leur voracité* : au stade adulte, la consommation de proies ne paraît pas dépasser une trentaine de cochenilles par jour (IPERTI, 1961) ;

— *leur fécondité* : la femelle de *Ph. anchorago* possède au total environ 14 gaines ovariques. Dans de bonnes conditions climatiques, alimentaires et sanitaires chaque individu devrait pondre théoriquement 300 œufs par mois. Or, en laboratoire, le nombre d'œufs pondus mensuellement par femelle, ne dépasse jamais 75.

Ph. anchorago développe en moyenne une génération par mois. Espèce multivoltine, sa longévité dépasse rarement 30 jours (sauf pendant la période plus froide) et son potentiel de multiplication demeure relativement faible par rapport à de nombreuses autres espèces de Coccinelles. De plus, son taux de reproduction réel reste très bas : on l'évalue au quart de ses possibilités théoriques.

Indépendamment de son faible potentiel de multiplication, les conditions climatiques assez rudes de la région de l'Adrar et peut-être la qualité moyenne de la seule alimentation possible dans cette contrée (*P. blanchardi*) constituent autant de facteurs qui réduisent considérablement l'efficacité de cet ennemi naturel de la cochenille du palmier-dattier.

b) *Cybocephalus* sp.

La biologie de *Cybocephalus* sp. s'avère délicate à déterminer. En effet, la petite taille du Nitidulide et le comportement alimentaire des jeunes larves, qui se nourrissent exclusivement sous les boucliers des cochenilles, rendent difficile la mise au point d'un élevage rationnel. Malgré tout on a pu définir la durée de leur cycle. Elle ne dépasse jamais un mois à 32°C et 40 p. 100 HR. Leur fécondité et leur voracité semblent assez faibles. Durant la période froide on note un net ralentissement de leur activité. Une des particularités du développement des *Cybocephalus* sp. réside dans le comportement des larves âgées qui gagnent le sol pour se nymphoser.

Les connaissances biologiques très partielles obtenues à ce jour sur les *Cybocephalus* sp. appellent les mêmes remarques que celles formulées à propos de *Ph. anchorago* quant à leur faible efficacité prédatrice sur les populations de *P. blanchardi*.

Les deux espèces prédatrices indigènes, largement répandues sur les palmiers de l'Adrar et susceptibles de présenter un intérêt économique certain, dans la lutte contre la Cochenille du Palmier-dattier, s'avèrent, sinon complètement déficientes, tout au moins incapables, compte tenu de leur faible potentiel biologique, de combattre ce ravageur de manière satisfaisante.

V. — ÉCOLOGIE DES PRINCIPAUX PRÉDATEURS DE *P. BLANCHARDI*

Dans la région d'Atar les études portent essentiellement sur la connaissance écologique des deux prédateurs précédemment cités.

De nombreux facteurs conditionnent le comportement naturel de ces entomophages. Ils sont d'ordre climatique, microclimatique et trophique.

Leur influence règle l'activité des prédateurs dont la présence varie avec :

a) la période de l'année,

- b) le niveau de population des cochenilles,
- c) les caractéristiques microclimatiques des biotopes.

a) *Influence de l'époque de l'année*

Des relevés écologiques périodiques permettent de suivre, tout au long de l'année, l'évolution des populations de prédateurs dans les différents biotopes retenus dans la région d'Atar.

Les prospections écologiques portent sur des palmiers facilement accessibles dont la hauteur atteint environ trois mètres. Or, un grand nombre d'arbres dépassent fréquemment cette taille et s'élèvent jusqu'à plus de dix mètres. Une partie de la palmeraie échappe donc à l'observation.

Tous les quinze jours, de préférence le matin, on compte, sur une dizaine de palmiers-témoins, le nombre d'adultes et de larves de Coccinelles et de Nitidulides visibles sur toutes les palmes.

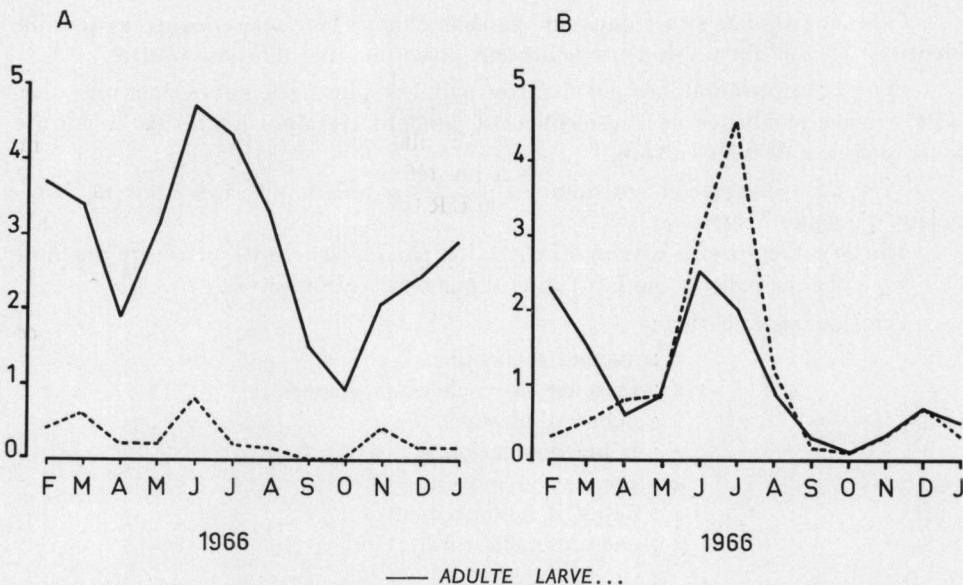


FIG. 3. — Nombre de larves et d'adultes de
A. *Cybocephalus* sp., B. *Pharoscymnus anchorago* F.
récoltés mensuellement par palme au cours de l'année 1966

Ce procédé permet d'évaluer convenablement le pourcentage des prédateurs présents, de déterminer leur période de multiplication et d'enregistrer leurs fluctuations de population.

Les résultats obtenus durant l'année 1966 portent sur les deux principaux prédateurs de *P. blanchardi* et se trouvent résumés dans la figure 3.

Ils appellent quelques remarques :

1. quelle que soit l'époque de l'année, on observe sur les palmiers une présence permanente des deux espèces prédatrices aux stades adultes et larvaires ;

2. les *Ph. anchorago* présentent une période d'intense reproduction aux mois de juin et de juillet ;

3. les *Cybocephalus* paraissent montrer deux périodes marquées de reproduction : l'une, la plus importante aux mois de juin et de juillet, l'autre en hiver.

Donc, dans les conditions naturelles de l'Adrar, *Ph. anchorago* et *Cybocephalus* sp. se multiplient d'une façon presque ininterrompue. Espèces multivoltines, elles ont montré toutes deux un net ralentissement d'activité, en 1966, pendant les mois de septembre et d'octobre. Suivant l'année considérée, les époques de multiplication et de repos de ces prédateurs subissent un certain décalage pouvant atteindre environ deux mois.

b) Influence de l'alimentation

L'état végétatif des palmiers conditionne le taux d'infestation de *P. blanchardi*. Les conditions culturales et d'environnement dans lesquelles les palmiers de 3 mètres de hauteur se développent permettent de distinguer dans la région d'Atar des arbres-témoins appartenant à trois types différents.

Type 1: palmiers situés dans une parcelle irriguée contenant des arbres de taille identique et non abrités de l'ensoleillement (avec présence de sous-culture).

Type 2: arbres dominés par d'autres palmiers plus âgés, situés dans une parcelle irriguée et abritée de l'ensoleillement pendant certaines heures de la journée (avec présence de sous-culture).

Type 3: arbres également dominés par des palmiers plus âgés mais ne bénéficiant d'aucune irrigation.

Afin de caractériser le niveau d'infestation par *P. blanchardi* on affecte une note de 0 à 5 à chaque palmier qui fait l'objet d'une observation suivie.

Voici leur signification :

- 0 : aucune cochenille
- 1/2 : présence de cochenilles éparées
- 1 : début d'infestation
- 2 : faible population
- 3 : population moyenne
- 4 : début d'encroûtement
- 5 : encroûtement total

Les prospections effectuées pendant l'année 1966, dans les conditions climatiques générales de la région d'Atar, permettent de définir selon le type de palmier observé les interrelations qui existent entre le niveau moyen des populations de cochenilles et la densité des prédateurs inféodés à *P. blanchardi*.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 4.

On peut les résumer ainsi :

1. sur les divers types de palmiers les infestations de cochenille se situent à différents niveaux moyens :

- Palmiers du type 1 note 3 à 4
- Palmiers du type 2 note 2 à 3
- Palmiers du type 3 note 1/2 à 1

2. la densité des prédateurs observés sur ces trois types de palmiers varie

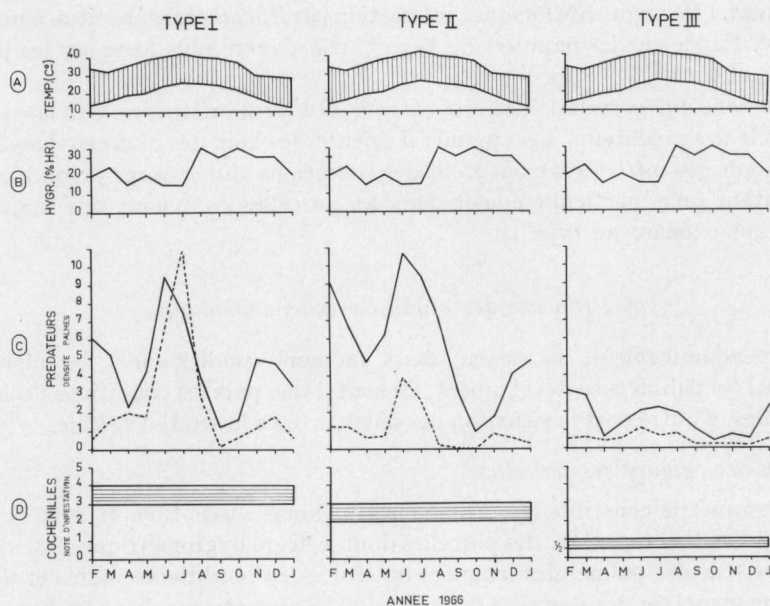


FIG. 4. — Nombre de prédateurs (*Cybocephalus* sp. + *Ph. anchorago*) récoltés mensuellement par palme durant l'année 1966 sur les différents types de palmiers

(Type 1, Type 2, Type 3)

A. Températures moyennes mensuelles (maximum-minimum)

B. Hygrométrie moyenne mensuelle à 6 heures, 12 heures, 18 heures

C. Nombre de larves et d'adultes de prédateurs récoltés par palme (Larves : - - - ; Adultes : —)

D. Niveau moyen d'infestation par *P. blanchardi* observé sur les palmiers étudiés.

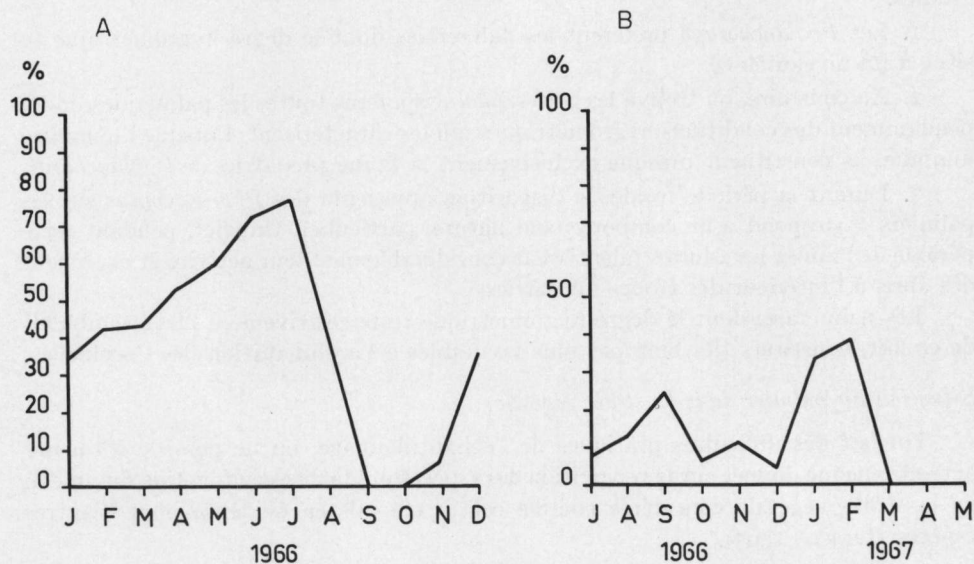


FIG. 5. — Proportion de *Ph. anchorago* adultes (exprimée en p. 100 du nombre d'imagos, de *Cybocephalus* sp. et de *Ph. anchorago*) récoltés

A. Dans les biotopes à degré hygrométrique élevé

B. Dans les biotopes à faible degré hygrométrique

notablement. Elle augmente lorsque l'infestation par *P. blanchardi* se situe à un niveau plus élevé. Faible sur les palmiers du type 3, elle s'avère plus forte sur les palmiers du type 1 et 2.

Il y a donc une corrélation étroite entre le niveau d'infestation par la cochenille et la densité des prédateurs. Ceci permet d'orienter le choix des biotopes dans lesquels les entomophages introduits trouveront des conditions alimentaires favorables à leur acclimatation (plus particulièrement dans les parcelles contenant une majorité de palmiers appartenant au type 1).

c) Influence des conditions microclimatiques

Indépendamment de la saison, deux facteurs conditionnent le microclimat dans lequel les palmiers se développent. Ce sont d'une part les conditions écologiques des parcelles, d'autre part la situation des dattiers dans la strate végétale.

Conditions écologiques des parcelles.

L'hygrométrie constitue le seul facteur du climat susceptible de varier considérablement. On distingue donc des parcelles dont le degré hygrométrique reste relativement élevé (cas des palmeraies irriguées ou situées en bordure de mares et de cours d'eau permanents) et des parcelles dont le degré hygrométrique demeure bas.

Les prospections écologiques, effectuées dans les deux situations précédentes, permettent de définir les habitats dans lesquels les adultes de *Coccinellidae* et de *Nitidulidae* présentent une forte densité.

Les résultats obtenus se trouvent résumés dans la figure 5. Les données recueillies fournissent des conclusions partielles sur la répartition écologique des deux prédateurs étudiés.

1. Les *Ph. anchorago* préfèrent les palmeraies dont le degré hygrométrique se situe à un niveau élevé.

2. Au contraire, on trouve les *Cybocephalus* sp. dans toutes les palmeraies, indépendamment des conditions hygrométriques qui les caractérisent. Lorsque l'humidité diminue, ils constituent presque exclusivement la faune prédatrice de *P. blanchardi*.

3. Durant la période froide, la disparition apparente des *Pharoscygnus* sur les palmiers correspond à un comportement naturel particulier. En effet, pendant cette période de l'année les adultes ralentissent considérablement leur activité et cherchent des abris à l'intérieur des troncs de dattier.

Les palmeraies dont le degré hygrométrique reste relativement élevé semblent, de ce fait, constituer des biotopes plus favorables à l'acclimatation des Coccinelles.

Situation du palmier dans la strate végétale.

Du fait des difficultés pratiques de l'échantillonnage, on ne possède à l'heure actuelle aucune donnée sur la répartition des espèces prédatrices en fonction du niveau de la strate végétale considérée comme cela a été mis en évidence pour d'autres espèces (IPERTI, 1965).

En résumé, les connaissances écologiques obtenues à ce jour peuvent se récapituler ainsi :

a) les prédateurs de *P. blanchardi* demeurent en permanence sur les palmiers,

- b) la densité des prédateurs augmente lorsque le niveau d'infestation de la Cochenille s'accroît,
- c) la présence des *Pharoscymnus* dépend directement du degré hygrométrique de la palmeraie.

VI. — FACTEURS QUI LIMITENT LA MULTIPLICATION DES COCCINELLES ET DES NITIDULIDES

Indépendamment des accidents du climat, cités ici pour mémoire, certains facteurs biologiques limitent considérablement la multiplication de *Ph. anchorago* et de *Cybocephalus* sp. Ce sont les entomophages et les maladies.

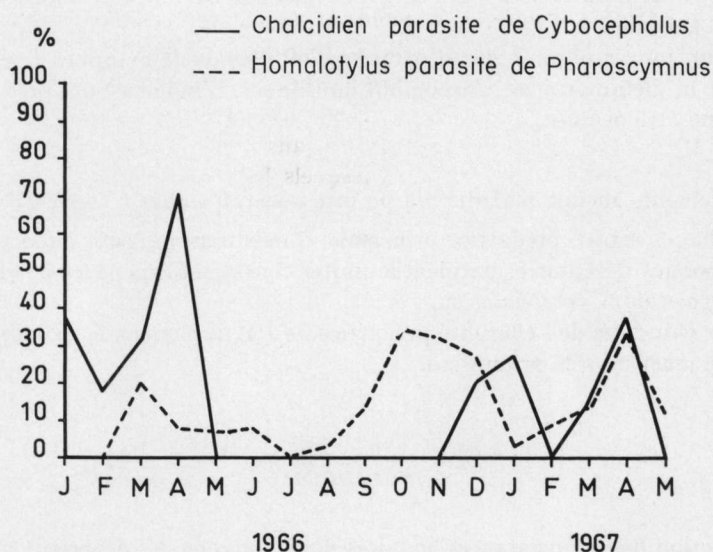


FIG. 6. — Pourcentage de parasitisme obtenu en 1966-1967 sur les larves de *Cybocephalus* sp. et de *Ph. anchorago*

a) Ennemis naturels de *Ph. anchorago*

Entomophages.

Trois Chalcidiens parasites se développent aux dépens des larves de *Ph. anchorago*. Le plus important est un *Homalotylus* du groupe *vicinus* SILVESTRI (*Encyrtidae*). Il est largement répandu dans toutes les palmeraies de l'Adrar et il réduit sensiblement les populations du prédateur. Il détruit jusqu'à 30 p. 100 des larves au printemps et en automne (fig. 6).

Les deux autres parasites, de moindre importance (dont un *Encyrtidae*) sont en cours d'identification.

Parmi les prédateurs actifs de *Ph. anchorago*, il faut citer essentiellement les Fourmis. D'autre part, le cannibalisme joue un rôle non négligeable.

Maladies.

Dans toutes les palmeraies de l'Adrar une maladie à grégaires sévit l'année durant sur les adultes de *Ph. anchorago*. Son importance justifie une étude approfondie et particulière de cet agent antagoniste.

D'autres maladies cryptogamiques ou bactériennes se trouvent sans doute à l'origine de mortalités encore inexplicées.

b) *Ennemis naturel de Cybocephalus sp.*

Entomophages.

Un parasite se développe aux dépens des larves de *Cybocephalus* sp. Il s'agit d'un *Chalcidoidea Encyrtidae* en cours de détermination qui réduit sensiblement les populations de *Nitidulidae*. Il semble disparaître complètement en été et en automne (fig. 6) sans que nous sachions encore s'il s'agit d'un passage sur un hôte intermédiaire ou d'un arrêt d'activité.

A ce jour, on n'a obtenu aucun parasite d'adultes ou de nymphes de *Cybocephalus* sp. dont la métamorphose s'accomplit dans le sol. L'influence des prédateurs n'a pas encore pu être évaluée.

Maladies.

Actuellement, aucune maladie n'a pu être constatée chez *Cybocephalus* sp.

Pour chaque espèce prédatrice principale, il existe un parasite important qui, à certaines époques de l'année, parvient à limiter considérablement les populations de *Ph. anchorago* et de *Cybocephalus* sp.

Dans la réduction de l'efficacité prédatrice de *Ph. anchorago*, la maladie à grégaires semble jouer un rôle primordial.

CONCLUSION

En fonction des connaissances acquises nous pouvons dès à présent préciser les conditions d'acclimatation de nouvelles espèces de prédateurs susceptibles de lutter plus efficacement contre *P. blanchardi* et les critères qui doivent présider à leur choix.

L'acclimatation devrait s'effectuer dans certaines palmeraies caractérisées par l'existence d'une abondante nourriture (*P. blanchardi*), de conditions climatiques favorables où les hautes températures se trouvent compensées par un degré hygrométrique élevé, de parcelles comprenant à la fois des palmiers de toutes les tailles.

Les espèces choisies doivent être adaptées au climat désertique. Le genre *Pharoscymnus* semble particulièrement convenir à de telles conditions extrêmes. Dans cette optique, la multiplication et l'envoi de *Pharoscymnus ovoideus* sic. en provenance d'Iran ⁽¹⁾ se poursuit. De même dans le sud de la Mauritanie on observe de

⁽¹⁾ Mission effectuée par M. GAILLOT du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris en Iraq et en Iran aux mois de septembre et d'octobre 1966.

nombreuses espèces prédatrices de Cochenilles (Diaspines) susceptibles de s'acclimater en Adrar. Déjà l'une d'entre elles, *Chilocorus distigma* KLUG. en provenance de Kan-kossa fait l'objet d'une étude dans les installations de quarantaine d'Antibes ; les premiers envois ont été faits à Atar.

D'autre part, il faut tenter l'acclimatation de nouvelles Coccinelles dont le potentiel de multiplication se place à un niveau beaucoup plus élevé que celui enregistré chez les prédateurs indigènes.

Le genre *Chilocorus* paraît répondre aux conditions précédentes. Aussi procède-t-on également à la multiplication et à l'envoi régulier de deux *Chilocorus* : l'un en provenance d'Iran : *Ch. bipustulatus* L. ⁽¹⁾, l'autre en provenance des États-Unis : *Ch. stigma* SAY ⁽²⁾.

Enfin, on doit réaliser l'introduction de différents types de prédateurs dont le comportement naturel complémentaire assurerait la recherche et la destruction des cochenilles dans toutes les strates végétales qui caractérisent les palmeraies spontanées.

Ainsi, le choix des *Chilocorus* inféodés à la strate élevée des arbres et des *Pharoscymnus* qui semblent peupler les palmiers plus bas, se justifie pleinement.

Indépendamment des possibilités d'acclimatation des Coccinelles en cours d'introduction, il importe de connaître leur sensibilité respective à l'égard des ennemis naturels énumérés plus haut (maladies, parasites et prédateurs).

Une étude particulière entreprise sur ce sujet permettra de juger raisonnablement des possibilités d'adaptation de ces nouveaux entomophages

Reçu pour publication en décembre 1968.

SUMMARY

ENTOMOPHAGOUS INSECTS OF *PARLATORIA BLANCHARDI* TARG. IN THE PALMGROVE OF THE MAURITANIAN ADRAR.

I. — BIOLOGICAL AND ECOLOGICAL STUDIES. ACCLIMATATION PROJECTS OF NEW PREDATORS (*COCCINELLIDAE*)

As a first step towards biological control of *Parlatoria blanchardi* TARG. in Mauritania, this study was devoted to the biocenosis of *P. blanchardi* in Adrar area.

We obtained a sufficient knowledge of

- a) the climate of the palm grove ;
- b) the list of the entomophagous fauna of the scale :

Nevroptera : 3 species, 2 of them are *Chrysopidae* (unidentified yet)

Coleoptera *Nitidulidae* : *Cybocephalus* sp.

Coccinellidae : *Pharoscymnus anchorago* F. (anywhere)

Pharoscymnus semiglobosus KARSCH. (Toungad only)

Pharoscymnus ovoideus hamifer (SMITH. (Toungad only)

Scymnus africanus W.S.E. (Toungad only)

Exochomus nigripennis E. R.

Hymenoptera : *Aphelinidae* : *Aphytis mytilaspidis* LE BARON

Acari ; (Unidentified yet) ;

⁽¹⁾ Ce *Chilocorus* envoyé par M. GAILLOT du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris au cours d'une mission en Iraq et en Iran, diffère sensiblement de *C. bipustulatus* connu en Europe (notamment par ses caractéristiques biologiques). Nous ne savons pas encore s'il s'agit d'un biotype différent ou même d'une sous-espèce.

⁽²⁾ Nous adressons nos remerciements à M. Paul DE BACH qui nous a fait parvenir une souche de *Chilocorus stigma* SAY en provenance de Californie.

- c) the biology and the ecology of the most important entomophagous insects ;
- d) the factors limiting the multiplication of Coccinellids and Nitidulids.

The two main native predatory species widely spread in the Adrar palmgrove are unable to control this pest according to their low reproductive capacity.

There is an important parasite for each of them (three species of *Chalcid* attack the larvae of *Ph. anchorago*, among them 1 *Homalotylus* ; another *Chalcid* parasitises the *Cybocephalus* larvae).

A gregarine disease seems to play an important part in the diminution of the predatory activity of *Ph. anchorago*.

The ecological and biological knowledge upon the two important predators of *P. blanchardi*, collected in the Adrar palmgrove, permits to define the most convenient places into which new predatory species have to be introduced and to chose such species on the basis of their ability to build high populations and depending of the main features of their behaviour.

We try now to introduce *Chilocorus bipustulatus* L. and *Pharoscyrnus ovoideus* SIC. from Iran and *Chilocorus stigma* SAY. from U. S. A. The acclimatation of *Chilocorus distigma* KLUG. collected in South Mauritania (in the surrounding of Kankossa) is also undertaken.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BALACHOWSKY A., 1925. Note sur deux prédateurs de *Parlatoria blanchardi* TARG. et sur leur utilisation en vue de la lutte biologique contre ce Coccide. *Bull. Soc. Hist. nat. Afr. Nord*, 1925, 167-172
- BALACHOWSKY A., 1926. Note sur l'acclimatation des prédateurs de *Parlatoria blanchardi* dans la palmeraie de Colomb-Béchar. *Bull. Soc. Hist. nat. Afr. Nord*, 1926, 93-96
- CALCAT A., 1959. Diseases and pests of date palm in the Sahara and North Africa. *F. A. O. Plant Protection Bull.*, 8, 5-10.
- GAILLOT P., 1967. Contribution à la lutte biologique contre *Parlatoria blanchardi* TARG. *Entomologiste*, 23, 130-135.
- IPERTI G., 1961. Les Coccinelles, leur utilisation en agriculture. *Rev. Zool. agric.* 60, 14-30, 60-71.
- IPERTI G., 1965. Contribution à l'étude de la spécificité chez les principales Coccinelles aphidiphages des Alpes-Maritimes et des Basses-Alpes. *Entomophaga*, 10, 159-178.
- KEHAT M., 1964. The phenology of *Pharoscyrnus* spp. (Coccinellidae) on date palm trees in Eilat. *Nat. Univ. Inst. Agric. Prelim. Rept.*, n° 456, 13 p.
- KEHAT M., 1967. Survey and distribution of common lady beetles (Col. Coccinellidae) on date palm trees in Israel. *Entomophaga*, 12, 119-125.
- KEHAT M., SWIRSKI E., 1964. Chemical control of the date palm scale, *Parlatoria blanchardi*, and the effect of some insecticides on the lady beetle *Pharoscyrnus Aff. numidicus* PIC. *Israel J. agric. Res.*, 14, 101-110.
- MARTIN H., 1958. Pests and diseases of date palm in Libya. *F. A. O. Bull. Plant Protection Bull.*, 6, 120-123.
- SMIRNOFF W. A., 1957. La Cochenille du palmier-dattier (*Parlatoria blanchardi* TARG.) en Afrique du Nord. Comportement, importance économique, prédateurs et lutte biologique. *Entomophaga*, 2, 1-100.
- WALTER H., LIETH H., 1960. *Klimadiagram. Weltatlas*. Gustav Fisher, Iena.

LÉSIONS CELLULAIRES DUES A DES MYCOPLASMES LIÉS A LA PHYLLODIE DU TRÈFLE CHEZ LA CICADELLE VECTRICE *EUSCELIS PLEBEJUS* FALL.

J. GIANNOTTI, G. DEVAUCHELLE

*Station de Recherches cytopathologiques, 30 - Saint-Christol
Institut national de la Recherche agronomique
Laboratoire de Biologie animale, 33, rue Saint-Leu, 80 - Amiens*

SOMMAIRE

L'étude histochimique des tissus de la cicadelle *E. plebejus* FALL., infectée par la phyllodie du trèfle, maladie dont elle est vectrice, montre que certaines cellules de divers organes présentent un matériel cytoplasmique contenant de l'ADN, de l'ARN et des protéines. Ce matériel est attribué à la présence de microorganismes pléomorphes présentant des analogies avec des mycoplasmes.

INTRODUCTION

Depuis quelques années se développent des recherches approfondies pour établir la nature des agents infectieux responsables de nombreuses maladies de plantes transmises biologiquement par des insectes, surtout des Homoptères. On a démontré que certaines d'entre elles sont dues à des virus qui se multiplient dans les tissus de leurs vecteurs. Par analogie avec ces données, on a assimilé à des viroses des maladies de type jaunisse que transmettent certaines cicadelles.

Les essais d'isolement de l'agent infectieux par les méthodes virologiques ne donnant pas de résultats, l'étude ultrastructurale sur des coupes ultrafines des tissus des plantes malades a été entreprise parallèlement par plusieurs équipes de chercheurs. Les travaux ont mis en évidence, dans le phloème des plantes malades, des microorganismes ayant une structure de mycoplasme, tandis qu'aucune particule assimilable à des virus n'était notée (DOI et coll., 1967 ; MARAMOROSCH et coll., 1968 ; GIANNOTTI, DEVAUCHELLE, VAGO, 1968 ; MAILLET et coll., 1968 ; GIANNOTTI, MORVAN, VAGO, 1968 ; GIANNOTTI, MARCHOU, VAGO, 1968 ; PLOAIE, 1968) Des micro-

organismes semblables ont été observés chez les cicadelles vectrices de ces maladies (MARAMOROSCH et coll., 1968 ; GRANADOS et coll., 1968), ou des Homoptères dont le rôle vecteur n'est pas encore démontré (MAILLET et coll., 1968). Leur isolement et leur purification ont pu être obtenus récemment à partir de tissus de cicadelles infectées et de liber de plantes malades (GIANNOTTI, VAGO, DUTHOIT, 1968). Leur cycle a pu être mis en évidence à propos de la phyllodie du trèfle transmise par *Euscelis plebejus* FALL., d'une part grâce à des tests de transmission rigoureusement contrôlés, et d'autre part, par l'examen des tissus des plantes et des insectes infectés, à l'aide de réactions cytochimiques et sur coupes ultrafines au microscope électronique (GIANNOTTI, DEVAUCHELLE, VAGO, 1968). Cette maladie est très répandue en Europe. En France son importance et le rôle d'*E. plebejus* comme vecteur ont été signalés par COUSIN et coll. (1965, 1966). Les cicadelles infectées présentant des cellules lésées, nous avons envisagé de les étudier plus en détail en faisant appel à la cytologie en microscopie électronique et à la cytochimie.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Élevages

Les jeunes larves de deuxième et troisième stades sont prélevées dans les élevages sains et divisées en deux lots. Celles du premier lot sont maintenues sur du trèfle malade pendant 35 à 40 jours. Les unes sont testées individuellement sur du trèfle sain pendant deux semaines. Le pourcentage de transmission est de l'ordre de 85 p. 100. D'autres sont fixées pour l'étude histologique parallèlement aux insectes du deuxième lot élevés sur du trèfle sain pendant 5 semaines.

Techniques histologiques

Pour l'étude de leurs tissus au microscope photonique, les insectes sont débarrassés de leurs pattes et de leurs ailes, leur thorax et abdomen sont fendus. Ils sont fixés au Carnoy et au Helly à la température du laboratoire pendant 24 heures. Après les traitements usuels, ils sont enrobés dans la paraffine 56-58° et coupés à 5 et 7 microns d'épaisseur. Les coupes sont colorées par la réaction de FEULGEN et ROSENBECK (1924), par le vert de méthyle pyronine selon LISON (1960), la gallocyanine selon EINARSON (1951) et le jaune naphтол S d'après DEITH (1955). Toutes ces techniques sont citées par LISON (1960).

Les colorations des acides nucléiques sont contrôlées soit par leur extraction totale à l'acide trichloracétique à 5 p. 100 à la température de 90°C pendant 15 mn, soit par leur élimination différentielle par la désoxyribonucléase en solution neutre à 0,01 p. 100 pendant 2 heures pour l'ADN, et pour l'ARN, par la ribonucléase à la même concentration pendant le même temps. Des lames témoins sont traitées, dans les mêmes conditions à l'eau distillée. La réaction de Feulgen est encore contrôlée en omettant l'hydrolyse à l'acide chlorhydrique normal à 60°C.

Microscopie électronique

Les glandes salivaires et l'intestin moyen de certains insectes sont fixés au glutaraldéhyde à 6 p. 100 dans un tampon cacodylate 0,1 M à pH 7,4 pendant une heure, puis postfixés à l'acide osmique à 2 p. 100 dans le même tampon, pendant le même temps à 4°C. Les coupes de 0,05 à 0,02 μ d'épaisseur sont colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb, selon REYNOLDS (1963).

RÉSULTATS

Chez les 62 cicadelles examinées après élevage sur trèfle infecté, 59 présentent un matériel cytoplasmique Feulgen positif pyroninophile associé à des protéines dans des cellules appartenant surtout à l'un des tissus et organes suivants : l'épithélium digestif et la tunique conjonctive de l'intestin moyen, les glandes salivaires, le tissu adipeux, l'épithélium de l'aorte et du vaisseau dorsal. Ce matériel se colore en violet par le vert de méthyle pyronine. Après l'action de la désoxyribonucléase, il reste pyroninophile. Son affinité pour le vert de méthyle demeure après le traitement des préparations par la ribonucléase. Il réagit positivement à la gallocyanine après l'action de l'un des deux enzymes. La réaction de Feulgen est négative après l'action de la DNase ou après l'omission de l'hydrolyse à l'acide chlorhydrique normal à 60°C. Aucune des colorations des acides nucléiques employées n'est positive après leur extraction par l'acide trichloracétique à chaud. La concordance de tests indique que ce matériel, présent dans certaines cellules des insectes élevés sur trèfle atteint de phyllodie comprend, en plus des protéines révélées par le jaune naphthol S, de l'ADN et de l'ARN. Il se présente tantôt sous la forme de fines granulations ou de filaments dispersés, tantôt agglomérés en réseaux irréguliers, en masses de taille diverse, plus ou moins homogènes. Ces caractéristiques se retrouvent avec des variantes qui dépendent du type du tissu atteint. Chez 20 cicadelles élevées sur des plantes saines, aucune modification de ce genre n'a été retrouvée.

I. — ÉTUDE CYTOCHIMIQUE DES CELLULES LÉSÉES
CHEZ LES CICADELLES INFECTÉES

1. *L'intestin moyen* (fig. 1)

Les cellules lésées de l'épithélium digestif se rencontrent surtout dans la partie initiale de l'intestin moyen ou estomac. Le cytoplasme des cellules est presque entièrement Feulgen positif (fig. 1 F) à l'exception de petites vacuoles. Le ou les noyaux restent visibles. Chez d'autres, la coloration varie en intensité et localisation ; quelques-unes ne présentent qu'une réactivité relativement peu intense, le matériel Feulgen positif se présentant sous la forme de fins granules dispersés, ou parfois en courts filaments. Parfois, seule la région apicale ou la zone basale de la cellule digestive est colorée, tandis que par endroits la tunique conjonctive du tube digestif réagit plus ou moins fortement au réactif de Schiff, au niveau de petites boursoufflures qui font saillie vers l'intérieur de la cavité générale et qui paraissent parfois s'en détacher.

2. *Les glandes salivaires* (fig. 2)

Elles présentent toute une gamme de modifications de certains de leurs acini, parfois d'un grand nombre d'entre eux. Le matériel Feulgen positif se situe dans la région périphérique des cellules, ou bien il imprègne la trame cytoplasmique. Celle-ci peut, dans d'autres acini, être le support de sortes de « flocons » de matériel Feulgen

positif (fig. 2 et 3 M). L'aspect des cellules n'est pas sensiblement modifié. Mais parfois c'est une zone plus vaste (fig. 2 et 3 M), plus dense, aux contours mal définis ou même une masse compacte qui remplit toutes les cellules. La structure cytotologique est alors fortement altérée.

3. *Le tissu adipeux* (fig. 3)

Au niveau du corps gras, les cellules lésées présentent un matériel cytoplasmique Feulgen positif plus ou moins important qui peut les envahir complètement. Elles sont alors dilatées ou à contours anguleux et dépourvues des inclusions de réserves que l'on rencontre dans les cellules non atteintes. D'autres cellules à matériel Feulgen positif montrent plusieurs noyaux, pauvres en grains de chromatine, à peu près ronds, avec une membrane nucléaire soulignée par le réactif de Schiff. Leur groupement semble indiquer qu'ils résultent de la division du noyau primitif toujours beaucoup plus gros, à grains chromatinien bien marqués. Parfois les cellules voisines d'une cellule à cytoplasme Feulgen positif, montrent des noyaux de forme très contractée (fig. 3 C). Lorsqu'un groupe de cellules adipeuses est révélé par le réactif de Schiff, leurs limites peuvent ne plus être visibles (fig. 3 G). De grosses vacuoles avec peu ou pas de matériel Feulgen positif, creusent le cytoplasme tandis que les noyaux sont petits, pauvres en ADN et peu apparents.

4. *L'épithélium de l'aorte et du vaisseau dorsal* (fig. 4)

Dans la tête et le thorax, l'aorte est un simple tube étroit, à parois très minces. On y rencontre souvent des petites masses Feulgen positives de 10 à 20 microns de diamètre qui obstruent sa lumière. Certaines paraissent nucléées ce qui laisse envisager une dérivation à partir de cellules dont l'origine n'a pu être précisée.

Dans la région dorso-abdominale où l'aorte se dilate, les mêmes structures se rencontrent (fig. 4 M). Mais ce sont surtout les lésions des cellules épithéliales qui apparaissent avec évidence, soit sur la face interne du vaisseau, soit sur sa face externe. Il s'agit de boursoflures (fig. 4 E), de masses denses allongées qui remplissent et dilatent les cellules pariétales. En d'autres endroits un matériel moins dense, granulaire est visible. De plus, à la hauteur des cellules lésées, les noyaux paraissent parfois irréguliers et très contractés.

II. — RÉPARTITION DES MODIFICATIONS ET DES LÉSIONS CYTOPLASMIQUES EN FONCTION DU TYPE CELLULAIRE DES TISSUS ATTEINTS

Les cellules qui présentent un matériel cytoplasmique Feulgen positif sont facilement repérables dans les tissus des insectes élevés sur des trèfles atteints de phylodie. Leur répartition a été étudiée systématiquement dans l'épithélium du tube digestif, le tissu adipeux et les glandes salivaires de 62 individus. Trois d'entre eux ne présentent aucune lésion cellulaire. Le tableau 1 donne les résultats concernant 59 cicadelles.

Chez la moitié des individus (30 sur 59), les cellules modifiées et lésées se rencontrent simultanément dans les trois types de tissus. Avec les insectes chez lesquels

deux organes seulement sont atteints en même temps, on obtient un nombre élevé : 48 individus, comparé au nombre des cicadelles (II) n'ayant de lésions qu'au niveau d'un seul des trois types cellulaires. Il est intéressant de noter le nombre élevé d'in-

TABLEAU I

*Répartition des modifications et lésions cellulaires
mises en évidence par la réaction de Feulgen*

Tissus atteints	Femelles	Mâles	Totaux
GS + IM + TA.....	16	14	30
GS + IM.....	7	1	8
GS + TA.....	1	5	6
MI + TA.....	3	1	4
GS.....	3	2	5
IM.....	3	3	6
TA.....	0	0	0
	—	—	—
	33	26	59

GS : glande salivaire.

IM : intestin moyen.

TA : tissu adipeux.

sectes présentant soit du matériel Feulgen positif au niveau des cellules de l'épithélium digestif de l'intestin moyen (48), soit au niveau des acini des glandes salivaires(49). Un petit nombre d'individus ne présentent de matériel Feulgen positif qu'au niveau des glandes salivaires ou de l'intestin moyen, tandis qu'on ne remarque aucun facies cytologique anormal limité au seul tissu adipeux. N'apparaissent dans le tableau, ni l'intensité des modifications cellulaires, ni le nombre des cellules atteintes pour chaque type de tissu, nombre qui varie souvent de façon spectaculaire d'une cicadelle à l'autre. Par exemple, au niveau de l'intestin moyen de certains individus, seules une ou deux cellules présentent un matériel Feulgen positif.

III. — ÉTUDE DES GLANDES SALIVAIRES ET DE L'INTESTIN MOYEN AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

La répartition des lésions et des modifications cellulaires dans les divers tissus des cicadelles infectées indique que l'intestin moyen et les glandes salivaires sont les organes les plus favorables à l'étude ultrastructurale du matériel cytoplasmique anormal que nous avons décrit.

L'examen des coupes ultrafines de nombreuses cellules appartenant à ces tissus montre que quelques-unes d'entre elles renferment de nombreux éléments intracytoplasmiques, plus ou moins globuleux, dont le diamètre varie de 90 μ pour les plus petits (fig. 6 et 7 D) à 800 μ pour les plus grands (fig. 5, 6, 7 H). Ils sont limités par une membrane unitaire d'environ 7 à 8 μ d'épaisseur (fig. 7 M). Vers l'intérieur

et à son voisinage immédiat, se trouve une zone comprenant de nombreuses granulations de 13 à 15 μ de diamètre environ et pouvant être assimilées à des ribosomes. La région centrale, plus ou moins colorée, renferme un réseau de fibrilles ténues représentant le matériel nucléaire parfois coagulé en une masse amorphe et irrégulière (fig. 7 C). Cette structure s'apparente étroitement à celle des mycoplasmes décrits en pathologie humaine et vétérinaire (KLIENENERGER-NOBEL, 1962 ; MANILOFF, 1967). Les régions cellulaires où se trouvent en grand nombre ces microorganismes présentent un cytoplasme désorganisé, caractérisé en particulier par l'absence des vacuoles et des réseaux cytoplasmiques propres à ces cellules.

DISCUSSION

Les observations que nous venons de rapporter montrent que chez la plupart des cicadelles élevées sur du trèfle atteint de phyllodie, des cellules appartenant à différents tissus présentent des lésions dues selon toute vraisemblance aux microorganismes proches des mycoplasmes, mis en évidence en microscopie électronique.

Nous avons constaté que la répartition de ces lésions cellulaires chez les cicadelles et dans leurs tissus présente des variations importantes. Chez certains insectes, les glandes salivaires, les cellules intestinales, le tissu adipeux, l'épithélium conjonctif de divers tissus et particulièrement celui de l'aorte et du vaisseau dorsal présentent de nombreuses lésions. Ces observations sont à rapprocher du fait régulièrement constaté au cours de nos essais que les cicadelles des élevages contaminés vivent en moyenne moins longtemps que celles des élevages sains, et indiquent vraisemblablement une certaine action pathogène de la part des agents infectieux.

Ces altérations cytologiques ont été retrouvées chez *Aphrodes bicinctus* SCHRANK, qui transmet la phyllodie (BOVEY, 1957) et chez *Euscelidius variegatus* KBM dont nous avons signalé le rôle vecteur (GIANNOTTI, sous presse). Ces insectes, et d'autres espèces peu éloignées, sont aussi vectrices de maladies apparentées aux jaunisses (VALENTA, 1960) à propos desquelles PLOAIE (1968) décrit des microorganismes du même type que ceux signalés chez le trèfle atteint de phyllodie. Il serait intéressant de rechercher si ces vecteurs présentent des lésions rappelant celles que nous avons signalées chez les cicadelles qui transmettent la phyllodie.

Reçu pour publication en décembre 1968.

SUMMARY

CELL-INJURIES DUE TO MYCOPLASMA CAUSED BY THE VECTOR OF CLOVER PHYLLODY,
THE LEAFHOPPER *EUSCELIS PLEBEJUS* FALL.

The cytochemical study of cells of the leafhopper *E. plebejus* infected by the clover phyllody and transmitting it, reveals the occurrence of cytoplasmic lesions in various tissues. The electron microscopic examination of ultrafin sections of midgut and salivary glands of infected insects, shows the presence in the altered cells, of mycoplasma like bodies. These later are likely the causative agents of the phyllody.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOVEY R., 1957. Une anomalie des fleurs du trèfle causée par un virus transmis par des cicadelles. *Rev. Rom. Agric. Vitic. Arbor.*, **13**, 106-108.
- COUSIN M.-T., MOREAU J.-P., VAN LOON L. C., 1965. Les maladies à virus du trèfle transmises par cicadelles en France. *Ann. Épiphyties*, n° hors-série, **16**, 137-148.
- COUSIN M.-T., MOREAU J.-P., 1966. Rôle d'*Euscelis plebejus* FALL dans la transmission des maladies à virus du trèfle blanc. Étude de la conservation du virus au cours de l'hiver. *Ann. Épiphyties*, n° hors-série, **17**, 75-79.
- DOI Y., TERENAKA M., YORA K., ASUYAMA H., 1967. Mycoplasma or PLT group like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom (en japonais, résumé anglais). *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **33**, 259-266.
- GIANNOTTI J., DEVAUCHELLE G., VAGO C., 1968. Microorganismes de type mycoplasme chez une cicadelle et une plante infectées par la phyllodie. *C. R. Acad. Sci.*, **266**, 2168-2170.
- GIANNOTTI J., MORVAN G., VAGO C., 1968. Microorganismes de type mycoplasme dans les cellules libériennes de *Malus sylvestris* L. atteint de la maladie des proliférations. *C. R. Acad. Sci.*, **267**, 76-77.
- GIANNOTTI J., MARCHOU G., VAGO C., 1968. Microorganismes de type mycoplasme dans les cellules libériennes de *Solanum lycopersicum* L. atteinte de Stolbur. *C. R. Acad. Sci.*, **267**, 454-456.
- GIANNOTTI J., VAGO C., DUTHOIT J. L., 1968. Isolement et purification de microorganismes à structure de mycoplasmes à partir de cicadelles et de plantes infectées de jaunisses. *Rev. Zool. agric. appl.*, **4-6**, 69-72.
- GIANNOTTI J. Transmission of clover Phyllody by a new vector, the leafhopper *Euscelis variegatus* KMB. *Plant Dis. Rep.* In press.
- GRANADOS R. P., MARAMOROSCH K., SHIKATA E., 1968. Mycoplasma suspected etiologic agent of corn stunt. *Proc. nation. Acad. Sci.*, **60** (3), 841-844.
- KLIENEBERGER-NOBEL E., 1962. *Pleuropneumonia like organisms PPLO. Mycoplasmataceae*. Acad. Press. London.
- LISON L., 1960. *Histochimie et cytochimie animales*. Gauthiers-Villars, Éd. Paris.
- MAILLET P.-L., GOURRET J.-P., HAMON C., 1968. Sur la présence de particules de type mycoplasme dans le liber de plantes atteintes de maladies du type « jaunisse » (Aster yellow, Phyllodie du Trèfle, Stolbur de la Tomate) et sur la parenté ultrastructurale de ces particules avec celles trouvées chez divers insectes Homoptères. *C. R. Acad. Sci.*, **266**, 2309-2311.
- MANILOFF J., 1967. Organisation of small cells. The pleuropneumonia like organisms. *J. Cell. Biol.*, **35**, (2 pt. 2), 87 A.
- MARAMOROSCH K., SHIKATA E., GRANADOS R. R., 1968. Structures resembling mycoplasma in diseased plants and in insect vectors. *Trans. N. Y., Acad. Sci.*, **30**, 6, 841-855.
- PLOAIE P., 1968. Mycoplasma-like structures in periwinkle plants with Crimean yellows, European clover dwarf Stolbur and parastolbur. *Phytopathology*, **38** (8), 1063.
- REYNOLDS E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, **17**, 203-212.
- VALENTA V., 1960. Untersuchungen über Stolbur und verwandte Viren. *Proc. 4 th Conf. Potato virus Dis.* Braunschweig, 141-145.

PLANCHE I

Les préparations sont colorées par la réaction de Feulgen

FIG. 1. — *Coupe longitudinale du proventricule de l'intestin moyen*
F : cellules dilatées à cytoplasme Feulgen positif

FIG. 2. — *Coupe longitudinale de glandes salivaires avec des acini à matériel dense Feulgen positif*
A : acini complètement modifiés
T : trame cytoplasmique légèrement Feulgen positive

FIG. 3. — *Coupe de tissu adipeux*
G : groupe de cellules adipeuses lésées
C : cellules adipeuses dont le cytoplasme montre l'apparition d'ADN cytoplasmique

FIG. 4. — *Coupe longitudinale de vaisseau dorsal au niveau de l'abdomen*
L : lumière du vaisseau dorsal
P : parois du vaisseau dorsal
E : excroissance de l'épithélium interne du vaisseau dorsal
M : masses Feulgen positives qui encombrent la lumière du vaisseau dorsal

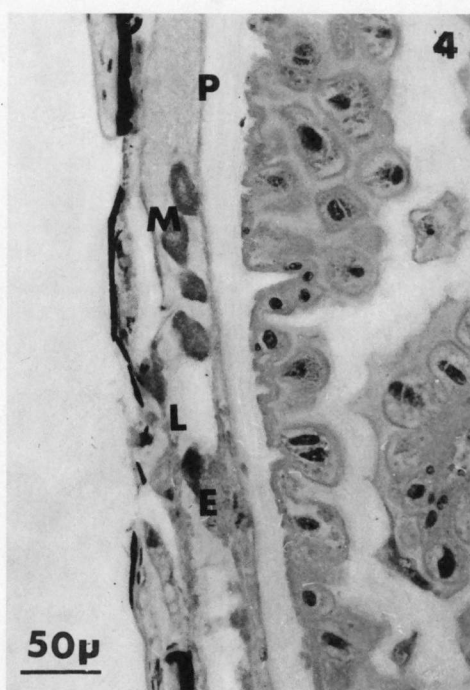
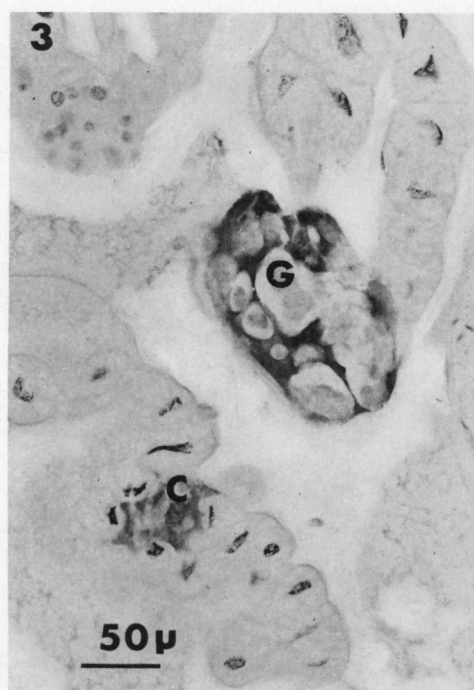
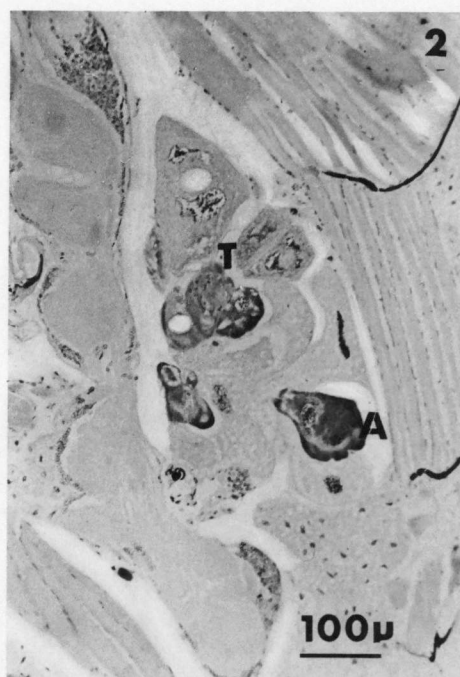


PLANCHE II

FIG. 5. — *Coupes de glandes salivaires de cicadelles infectées par la phyllodie.*
H : corpuscules globuleux de grande taille.

FIG. 6. — *Coupe d'une cellule de l'intestin moyen.*
D : corpuscules globuleux de faible taille.
H : corpuscules globuleux de grande taille.

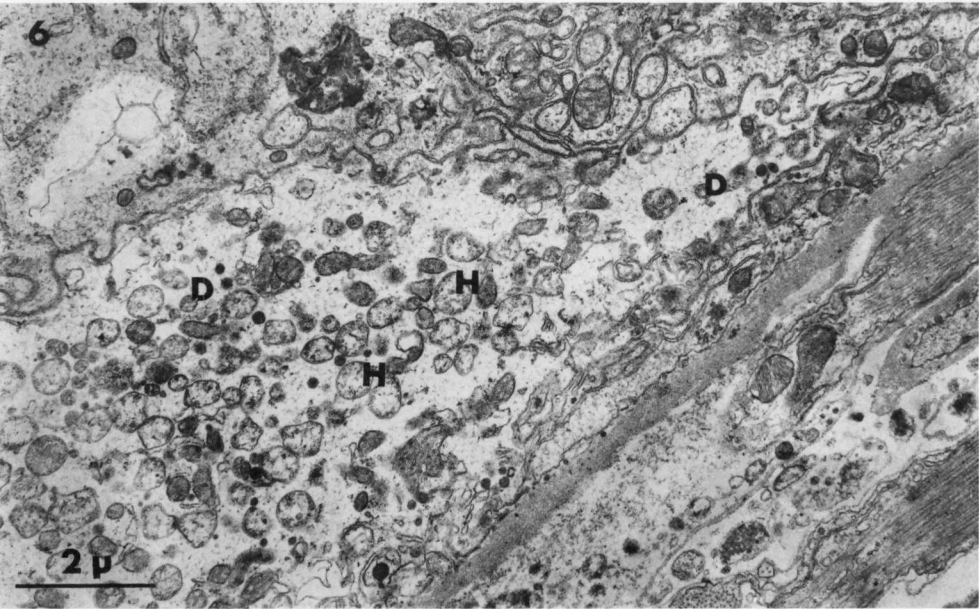
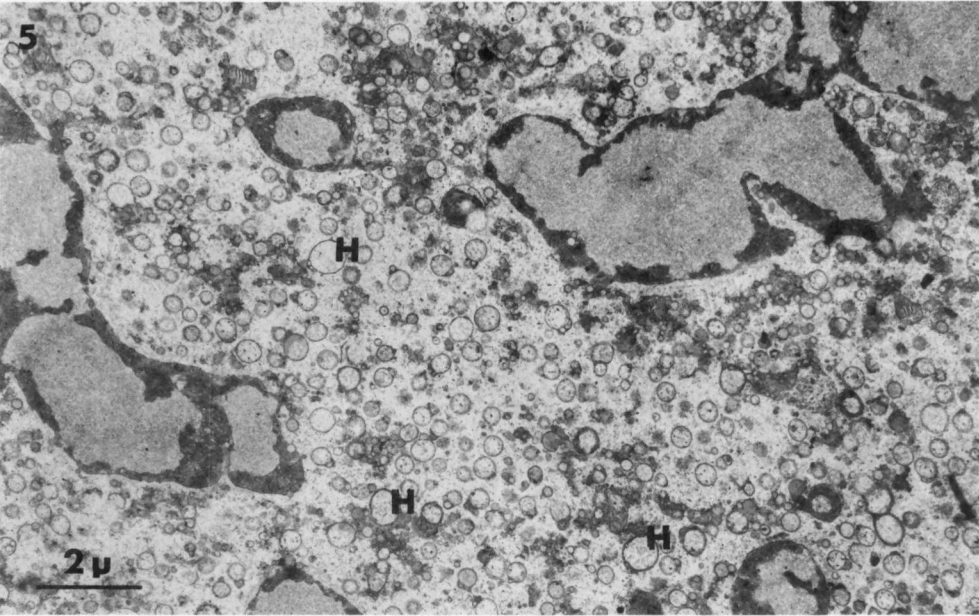
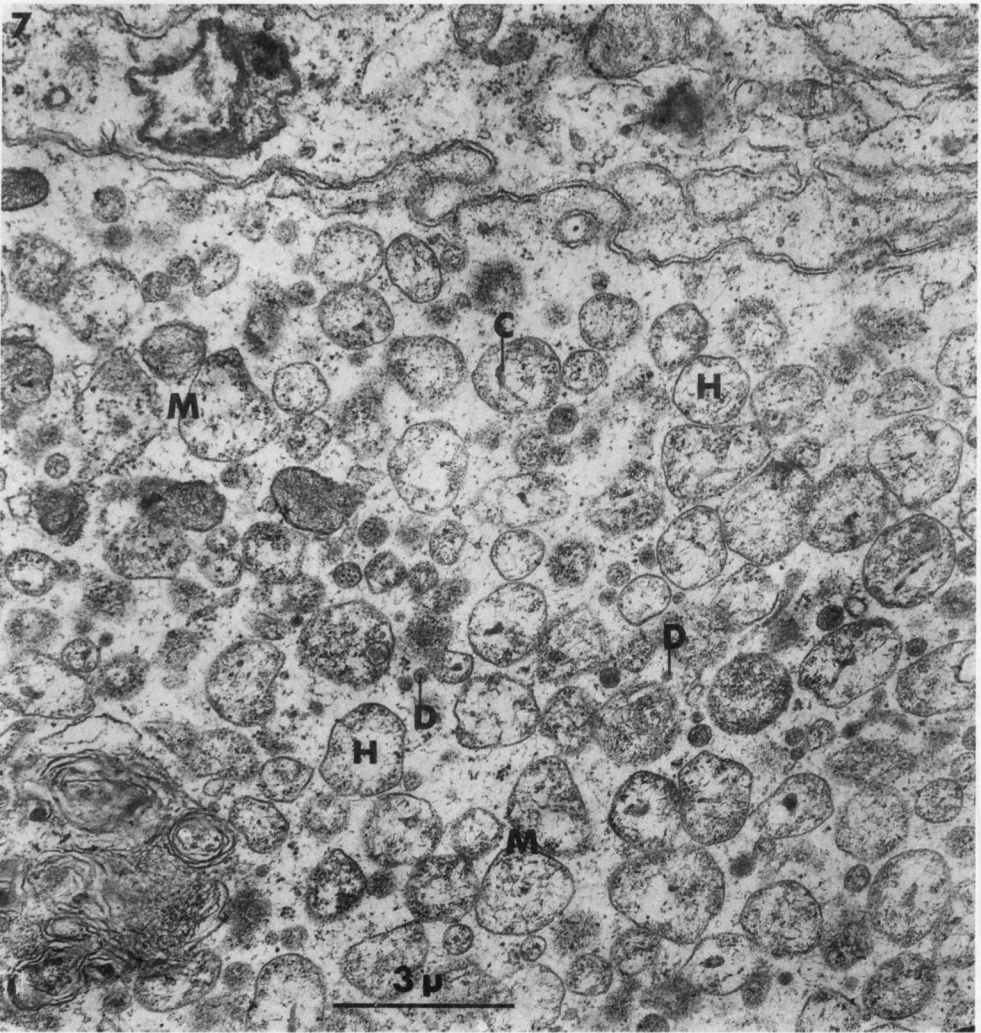


PLANCHE III

FIG. 7. — *Coupe d'une cellule digestive de l'intestin moyen.*

- M : membrane unitaire des corpuscules.
- R : structure interne réticulée.
- C : matériel nucléaire coagulé.
- H : corpuscules globuleux de grande taille.
- D : corpuscules globuleux de petite taille.



J. GIANNOTTI, G. DEVAUCHELLE.

PREMIÈRES OBSERVATIONS SUR LA BIOLOGIE
DE *CAPITOPHORUS HORNI* BÖRNER
(HOMOPTERA : APHIDIDAE) DANS L'OUEST DE LA FRANCE

Y. ROBERT

avec la collaboration technique de Jacqueline PERRATON

Laboratoire de Recherches de la Chaire de Zoologie,
École nationale supérieure agronomique,
Centre de Recherches agronomiques de l'Ouest, 35 - Rennes
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

La biologie de *Capitophorus horni* est étudiée sur Chardon (*Cirsium arvense* SCOP.) et sur Artichaut cultivé (*Cynara scolymus* L.), plante sur laquelle il n'avait jamais encore été signalé. Il ressort de cette étude que l'apparition des formes ailées vivipares n'est pas en relation avec une forte densité de population sur Artichaut et que cet aphide demeure holocyclique et paramonœcique sur Chardon alors qu'il devient anholocyclique sur Artichaut. Les modalités de la transformation de ce cycle biologique sont discutées.

INTRODUCTION

Le Puceron *Capitophorus horni* BÖRNER est connu en Allemagne, en Hollande et en Angleterre (BÖRNER, 1931 ; HILLE RIS LAMBERS, 1953) où il attaque fréquemment les chardons du genre *Cirsium* (*C. oleraceum* SCOP., *C. lanceolatum* SCOP. et surtout *C. arvense* SCOP.). Il accomplit sur ces plantes la totalité de son cycle avec reproduction sexuée en automne, et hibernation exclusive à l'état d'œuf (holocyclie, paramonœcie). L'espèce est également mentionnée en Israël (BODENHEIMER, SWIRSKI, 1957) où un spécimen considéré comme *C. horni* a été trouvé, par hasard, sur *Cucurbita pepo* en avril.

Bien que la présence de *Capitophorus horni* n'ait pas encore été signalée en France, l'espèce est largement répandue de l'ouest au sud-est du pays. La plus ancienne capture a été faite sur Artichaut, *Cynara scolymus* L., près de Nantes (Loire-Atlantique) (M. T. GOSSELIN, 4-VIII-1952 in coll. REMAUDIÈRE). L'espèce a été retrouvée sur

Cirsium spinosissimum SCOP. dans les Alpes (REMAUDIÈRE, 3-IX-1953), sur *Cirsium lanceolatum* et *Carduus tenuiflorus* CURT. près de Roscoff.

L'inventaire des Pucerons de l'Artichaut que nous poursuivons depuis quelques années nous a permis de constater l'existence de *C. horni* sur l'artichaut cultivé en Bretagne (Roscoff, Rennes) et dans le Sud-Est (Montfavet près d'Avignon, Hyères, Antibes).

Deux autres *Capitophorus* se rencontrent plus ou moins communément sur Artichaut dans le Sud-Est, *C. eleagni* D. GU. et *C. carduinus* Wl.K. La première espèce, la plus courante, est hétérocécique, l'œuf d'hiver étant pondu sur *Eleagnaceae* ; la seconde est paramonécique sur hôte secondaire où son cycle comporte une phase de reproduction sexuée. Dans l'Ouest, ces deux espèces sont rares.

Tandis qu'une quinzaine d'espèces de Pucerons sont susceptibles de se multiplier plus ou moins activement sur Artichaut sans causer à la plante de dommages sensibles (ROBERT, 1969), *Capitophorus horni* en Bretagne et *Brachycaudus cardui* L. en Provence (LABEYRIE, 1957) se révèlent véritablement nuisibles et exigent parfois des interventions phytosanitaires répétées.

Les dégâts commis par *C. horni* sont de deux ordres :

— les Pucerons ont une action directe sur la plante par les quantités importantes de sève qu'ils prélèvent ; il en résulte, généralement, une mauvaise reprise des drageons au début du printemps, époque favorable au développement des populations ; ensuite la montée à tête peut être retardée ; enfin, le rendement lui-même, en nombre de capitules et en poids, est affecté ;

— la deuxième action est indirecte : lors des pullulations importantes, l'abondance du miellat sur les feuilles permet à la fumagine de se développer. Sous leur action conjuguée, les limbes jaunissent et se dessèchent. Dans les cas extrêmes, tout le système végétatif aérien meurt.

Nous avons entrepris, depuis 1965, l'étude de la biologie de *C. horni* dans le but de rationaliser les moyens de lutte actuellement utilisés contre cette espèce sur Artichaut.

I. — PARTICULARITÉS DU MILIEU ET MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGES

Le milieu

La biologie de *C. horni* est étudiée, d'une part sur Artichaut et sur Chardon (*Cirsium arvense* SCOP.) dans la région de Rennes, d'autre part sur Artichaut dans sa région de culture intensive, située dans la « Ceinture dorée », autour de Roscoff et de Saint-Pol-de-Léon (N.-N.-W de Morlaix).

À Rennes, les conditions climatiques correspondent à un climat atlantique atténué par une tendance continentale : ceci se traduit par une cinquantaine de jours de gelée par an et une amplitude thermique annuelle d'environ 13,5° (tabl. 1). De plus, le réchauffement printanier est assez brutal et tardif (fin avril-début mai).

Dans la région de Roscoff, l'influence maritime s'exprime nettement par la rareté des gelées hivernales (12 jours par an à l'Ile-de-Batz) et une amplitude thermique

annuelle typique d'un climat littoral atlantique (inférieure à 10° ; tabl. 1). Toutefois, dès qu'on s'éloigne de la basse bordure côtière, les faibles reliefs de l'intérieur (collines de 50 m environ) suffisent à créer des différences microclimatiques sensibles accentuées par les vents, particulièrement en hiver lorsque le régime dominant de N.-N.-W. passe

TABLEAU I

Moyenne décennale des températures moyennes mensuelles à Rennes et à l'Île-de-Batz
(Période de 1957 à 1966)

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Rennes	4,4	6,1	8,1	10,3	13,2	16,3	17,7	17,4	16,2	12,4	8,0	5,7
Batz ..	6,7	7,8	8,8	10,2	12,3	14,5	16,0	16,1	15,6	12,9	10,1	8,1

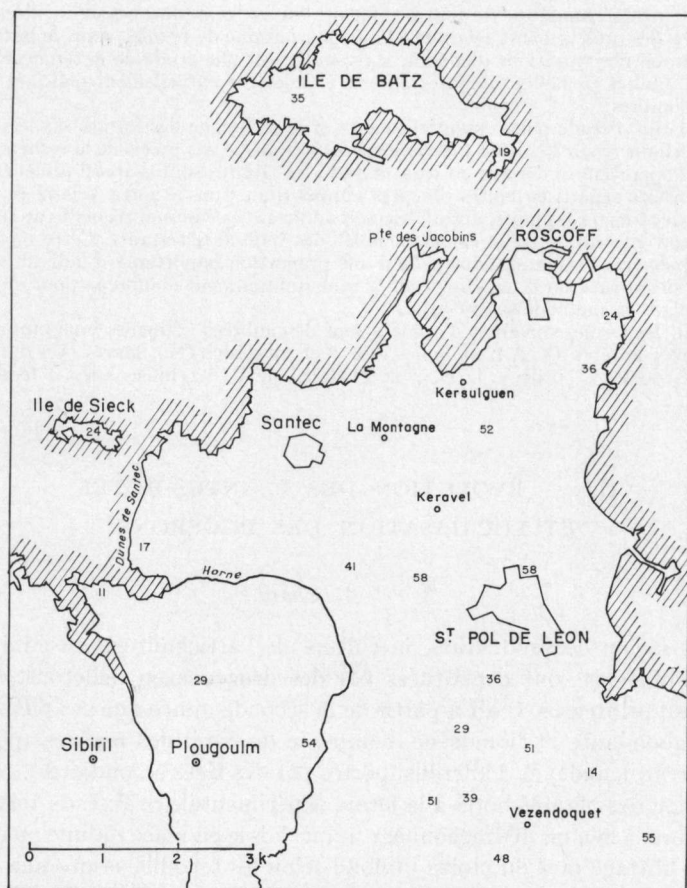


FIG. 1. — Stations d'étude de *Capitophorus horni* dans la région de Roscoff - Saint-Pol-de-Léon.
Les nombres indiquent les cotes d'altitude, en mètres

à N.-N.-E. Les trois principales stations de prospection ont été choisies en tenant compte de ces différences (fig. 1). Ce sont :

- *Kersulguen* (altitude 10 m), à 200 m de la côte, protégée à l'ouest par la pointe des Jacobins et à l'est par une colline d'environ 50 m d'altitude orientée nord-sud,
- *Keravel* située sur un plateau balayé par les vents,
- *Vézendoquet* plus à l'intérieur des terres, exposée en particulier aux vents froids de nord-est.

Les méthodes d'échantillonnage

A la ferme expérimentale S. E. I. de Vézendoquet, il nous est possible de suivre, depuis février 1967, l'évolution des populations de *C. horni* dans une parcelle de 500 pieds d'artichauts soumis aux seules pratiques culturales et non traités chimiquement depuis mai 1966. Cette parcelle sera supprimée seulement en juillet 1969. L'échantillonnage consiste à prélever 30 jeunes feuilles mesurant 25 à 40 cm de long, déjà bien étalées et 10 feuilles âgées caractérisées par une longueur de 60 à 80 cm et une disparition à peu près totale de la pilosité, à la face inférieure. Le prélèvement, bimensuel, est envoyé au laboratoire, sous sac plastique, pour être dépouillé.

Dans les autres stations (*Kersulguen* et *Keravel*), les cultures sont soumises au moins à trois ou quatre traitements chimiques de routine (fin de l'hiver, mai-juin, octobre) ; l'échantillonnage est alors limité à des prélèvements mensuels d'une quarantaine de feuilles, dans le but de faire, non plus une évaluation des variations d'effectif, mais seulement une étude de la structure des populations. Seuls les adultes (femelles vivipares aptères et ailées, éventuellement mâles et femelles ovipares) sont dénombrés.

A Rennes enfin, l'étude porte essentiellement sur la recherche des formes sexuées durant l'automne, sur Artichaut et sur Chardon (*Cirsium arvense*). Dans le cas précis de la recherche des sexués sur Artichaut, l'opération se déroule en trois étapes : les adultes sont d'abord prélevés sur l'échantillon qui est ensuite réparti en boîtes obscures munies d'un trou de sortie éclairé et placées à 20° environ ; après quatre ou cinq jours, durant lesquels adultes et larves sont recueillis au fur et à mesure de leur sortie, on effectue le recensement complet des individus restants. Cette méthode permet d'obtenir la rapide transformation imaginale d'une proportion importante d'individus. Dans le cas de la recherche des sexués sur *C. arvense*, ceux-ci sont suffisamment nombreux pour qu'il ne soit pas nécessaire d'utiliser la méthode précédente.

En général, les formes suivantes d'aphides sont dénombrées : femelles vivipares ailées (V. L.), femelles vivipares aptères (V. A.), nymphes des 3^e et 4^e stades (N.), larves (L.) des autres types (1^{er} et 2^e stades de V. A. ou de V. L. et 3^e et 4^e stades de V. A.), mâles ailés et femelles ovipares aptères.

II. — ÉVOLUTION DES PLANTES-HÔTES ET LOCALISATION DES PUCERONS

A. — *Artichaut*

Dans la région de production, la culture de l'artichaut est au minimum triennale ; les plantations sont constituées par des drageons ou œilletons, détachés de pieds-mères au printemps. C'est à partir de la seconde année que ces pieds fourniront une récolte abondante et homogène, composée de capitules maîtres (portés par la hampe florale principale) et d'aïlerons (portés par des tiges secondaires). Nous étudions l'évolution des plantes-hôtes à la ferme expérimentale S. E. I. de Vézendoquet.

En octobre, a lieu un dédrageonnage qui ne laisse en place qu'une ou deux touffes feuillées. Un buttage plus ou moins profond selon les terrains assure une hibernation correcte des parties souterraines. Après un débutage précoce (février-mars), de nouveaux drageons apparaissent ; ils seront éliminés lors du premier œilletonnage de

printemps dont la date varie d'une année à l'autre, selon la précocité du printemps, entre mars (14 mars 1968) et avril (11 avril 1967). La tendance à drageonner se poursuit encore puisqu'un second œilletonnage est en général nécessaire vers la mi-mai (21 mai en 1967, 14 mai en 1968). Mais elle s'atténue progressivement car cette époque correspond à l'apparition des capitules (10-15 mai 1967). La hampe florale s'allonge et les inflorescences augmentent de volume pendant un mois encore : on récolte d'abord les capitules maîtres puis les ailerons après une dizaine de jours. En 1967, la récolte a commencé au début de juin et s'est poursuivie jusqu'au 20 juillet environ, 50 p. 100 des « têtes » étant ramassées vers le 7 juillet.

Lorsque la coupe est terminée, on arrache les hampes (« bâtons ») et leurs feuilles aux environs de la seconde quinzaine de juillet.

Il ne reste donc en place à ce moment que deux ou trois rosettes dont la croissance est peu importante pendant tout l'été. La tendance à drageonner reprend à l'entrée de l'automne et un dernier œilletonnage est nécessaire en octobre avant le buttage (15 octobre 1967).

En dehors de la période de floraison, on peut distinguer trois sortes de feuilles :

a) *les très jeunes feuilles* entourant le bourgeon apical et fortement serrées les unes contre les autres ; elles sont très plissées et présentent, à leur face inférieure, un revêtement pileux très dense et très épais ;

b) *les feuilles jeunes* bien dépliées, d'une longueur de 20 à 50 centimètres ;

c) *les feuilles âgées* d'une longueur de plus de 50 centimètres ; elles montrent, à leur face inférieure un feutrage de poils, qui, plaqués contre le limbe, laissent apparaître les nervures les plus petites.

Au moment de la floraison, la hampe florale porte des feuilles petites, entières, de consistance élastique et dont le limbe, plus ou moins frisé, est pratiquement glabre à sa face inférieure.

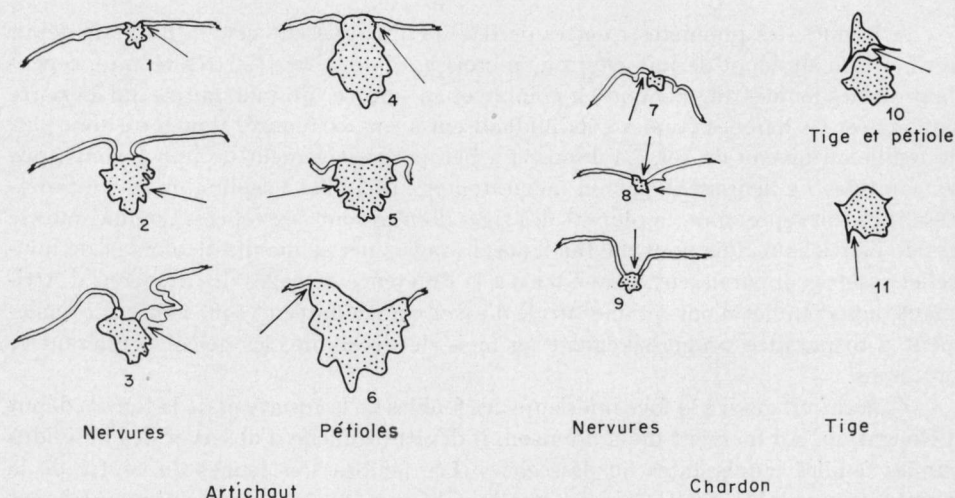


FIG. 2. — Exemples schématiques montrant, en coupe, la localisation préférentielle (marquée par les flèches) des sites d'alimentation et de ponte de *Capitophorus horni* sur Artichaut et sur Chardon

C. horni vit à la face inférieure et sur la nervure principale des feuilles (fig. 2) : c'est une espèce sédentaire qui colonise de préférence les nombreux replis longitudinaux des nervures et des pétioles ainsi que la jonction du limbe et des nervures. Ce comportement semble répondre à la recherche d'une position stéréotaxique optimale en liaison avec des conditions microclimatiques locales, lorsque la feuille a été acceptée par le Puceron. On ne trouve jamais d'individus sur les parties très jeunes du cœur de la rosette ; malgré la grande longueur de l'article apical du rostre, les stylets ne peuvent atteindre les tissus foliaires sous-jacents. Les feuilles des hampes florales ne portent jamais de Pucerons, malgré leur limbe glabre et les nombreuses niches microclimatiques qu'elles peuvent présenter. Trois causes semblent donc devoir être retenues pour expliquer l'absence des aphides : *épiphyllaxis* dans le premier cas, impossibilité de se nourrir sur les feuilles à cause d'une absence de stimuli d'ordre gustatif, enfin difficultés à coloniser les nouvelles feuilles à partir des vieilles. Si l'on considère, en effet, l'évolution des populations, on s'aperçoit qu'elle n'est pas identique sur les feuilles jeunes et sur les feuilles âgées (tabl. 2).

TABLEAU 2

Évolution des populations de Capitophorus horni à Vézendoquet en 1967 sur Artichaut
Nombre moyen d'individus par feuille de deux catégories (jeunes et âgées)
dans un échantillon de 30 jeunes feuilles et 10 feuilles âgées

Date	24-2	11-4	24-4	8-5	23-5	12-6	26-6	10-7	26-7	9-8
Feuilles jeunes	2,2	15,9	13,9	17,9	17,5	9,1	7,9	219,1	51,5	3,5
Feuilles âgées	4,8	3,6	11,2	119,5	118,0	110,3	576,1	387,6	833,6	10,7

B. — *Chardon* (*Cirsium arvense*)

A Rennes, les premières rosettes de feuilles apparaissent vers la fin mars-début avril. Jusqu'au début de juin environ, la croissance de la tige est très réduite, cependant que les feuilles augmentent en nombre et en surface. En juin, la tige qui les porte s'allonge et les hampes florales s'individualisent à son extrémité. Il ne reste donc plus de feuille au niveau du sol. La floraison a lieu progressivement de juin à août (tous les capitules ne fleurissent pas en même temps). De juillet à septembre les fruits mûrissent et, fin septembre, la plupart des tiges florales sont desséchées. Comme dans le cas de l'Artichaut, une nouvelle tendance à drageonner se manifeste alors et de nouvelles rosettes apparaissent. Cependant, à la différence de celles des drageons d'Artichaut, leurs feuilles n'ont qu'une survie d'assez courte durée et sont vouées normalement à disparaître progressivement au mois de décembre, les gelées accélérant le processus.

C. horni vit aussi à la face inférieure des feuilles de la rosette et de la tige en début d'élongation. Au moment de la floraison, il devient difficile d'observer des individus sur les feuilles jaunissantes ou desséchées. Les feuilles très jeunes du centre de la rosette, comme chez l'Artichaut, sont très velues et les Pucerons ne s'y nourrissent pas. En revanche, elles sont moins serrées les unes contre les autres et les femelles ovipares peuvent aller y pondre.

III. — ÉVOLUTION DES POPULATIONS DE CAPITOPHORUS HORNI

Sur Artichaut, *C. horni* maintient des colonies toute l'année dans l'ensemble des stations surveillées. Dans la région de production (« Ceinture dorée »), les sexués n'apparaissent jamais et la reproduction est toujours parthénogénétique. En revanche une tendance à la formation de sexués se manifeste à Rennes mais elle reste faible sur Artichaut alors que sur *C. arvense*, l'hivernation a lieu exclusivement au stade d'œuf.

A. — Étude des populations agames de *C. horni* sur Artichaut, dans la « Ceinture dorée »

1. A la ferme expérimentale S. E. I. de Vézendoquet.

En 1966, un prélèvement effectué le 14 septembre sur 14 feuilles, montre l'existence d'une forte pullulation (443 Pucerons en moyenne par feuille) suivie dans les autres échantillons d'une chute brutale des effectifs qui se stabilisent à 1 ou 2 individus

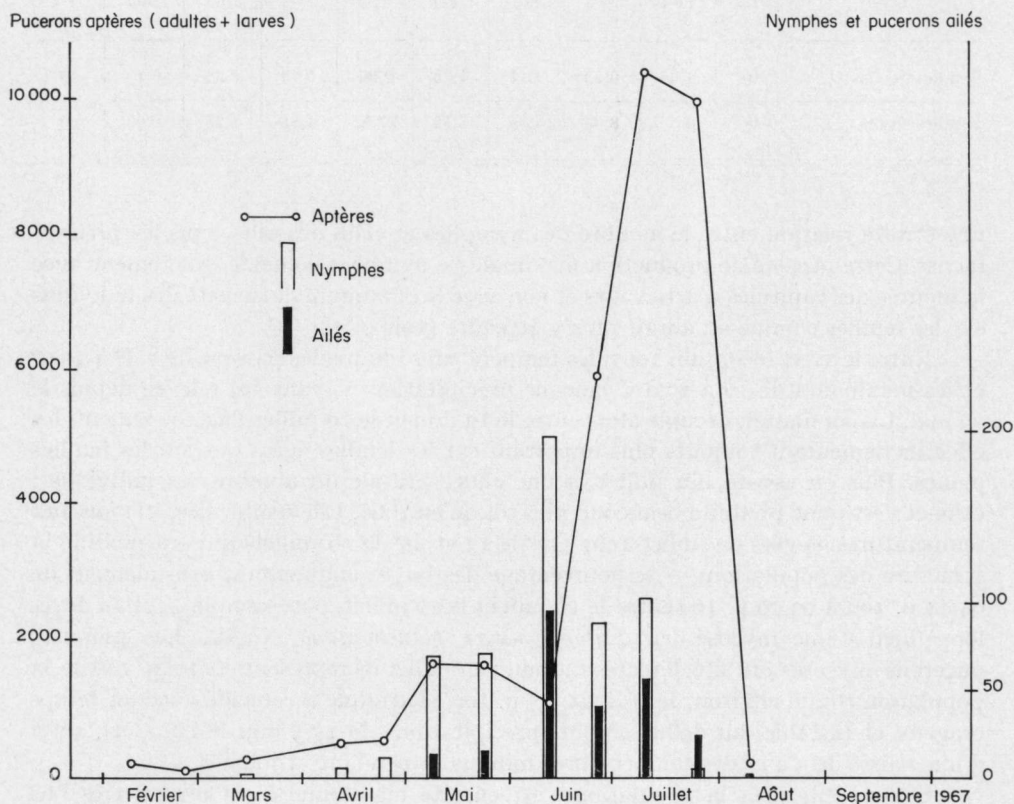


FIG. 3. — Évolution globale des populations de *Capitophorus horni* à Vézendoquet en 1967 : effectifs totaux recensés sur 30 feuilles jeunes et 10 feuilles âgées (ordonnées de gauche) ; nombre de nymphes et d'ailés dans les mêmes échantillons (ordonnées de droite)

par feuille pendant tout l'hiver. Ce niveau reste très bas jusqu'à la fin du mois d'avril 1967 (fig. 3 et tabl. 2), aussi bien sur les feuilles jeunes que sur les feuilles âgées, les densités de populations étant à peu près équivalentes. Après le dédrageonnage de printemps, le réchauffement de l'atmosphère, en mai, provoque un accroissement sensible des effectifs en particulier sur les feuilles âgées. Celui-ci aurait sans doute été plus important si la forte pluviosité de mai ne l'avait pas entravé. C'est à cette époque qu'apparaissent les nymphes : leur pourcentage, par rapport à la population globale qui, elle, reste à peu près constante, demeure relativement stable sur les jeunes feuilles alors qu'il augmente sur les feuilles âgées, atteint un maximum dans l'échantillon du 12 juin (17,42 p. 100 sur un total de 1 103 individus) pour décroître brusquement fin juin alors que la densité des individus devient maximale (tabl. 3). On peut noter

TABLEAU 3

*Évolution du pourcentage des nymphes de Capitophorus horni
à Vézendoquet en 1967 sur Artichaut*
(30 feuilles jeunes et 10 feuilles âgées dans chaque échantillon)

Date	24-2	11-4	24-4	8-5	23-5	12-6	26-6	10-7	26-7	9-8
Feuilles jeunes	0	1,06	0,73	1,11	1,72	2,20	0,42	0,82	0,13	0
Feuilles âgées.....	0	0	8,03	5,35	5,34	17,42	1,53	1,26	0,03	0

une étroite relation entre le nombre des nymphes et celui des ailés dans les prélèvements. Cette période de production maximale de nymphes coïncide exactement avec la montée des capitules d'artichauts et non avec le maximum de densité des individus sur les feuilles comme on aurait pu s'y attendre (voir p. 44).

Entre le 12 et le 26 juin 1967, les températures minimales passent de 7,9° à 10,9° et les maximales de 16 à 17,8°C, aucune précipitation n'ayant été relevée depuis le 29 mai. La population décuple alors entre le 12 juin et le 10 juillet, l'accroissement des effectifs demeurant toujours plus important sur les feuilles âgées que sur les feuilles jeunes. Puis on assiste, fin juillet, à une chute brutale du nombre des individus : celle-ci s'est donc produite beaucoup plus tôt qu'en 1966. Elle semble liée, à la fois aux températures élevées de juillet 1967 (27° le 13 et 25° le 16 juillet) qui ont modifié la structure des populations — le pourcentage des larves augmentant brusquement de 65,84 p. 100 à 93,70 p. 100 entre le 26 juin et le 27 juillet, par exemple — et au développement d'une mycose par *Entomophthora planchoniana* CORNU. Les premiers pucerons mycosés ont été détectés fin juin ; en juillet ils représentaient 7 p. 100 de la population totale environ, le 9 août 75 p. 100 ; l'attaque a coïncidé avec un temps orageux et instable, au début d'août (précipitations de 17,5 mm le 1^{er} août), suivi d'une baisse de 3 à 4° des températures minimales pendant 4 jours.

Comme en 1966, la population s'est ensuite maintenue à un niveau très bas pendant la fin de l'été, l'automne et l'hiver. Aucun mâle, aucune femelle ovipare et aucun œuf n'a été trouvé dans les prélèvements.

2. A Keravel et Kersulguen.

Contrairement à ce qui a été constaté à Vézendoquet, les populations de Pucerons demeurent importantes en hiver dans ces deux stations directement soumises à l'influence maritime. En 1966, on compte de 6 à 27 individus, par feuille, à Kersulguen en février et mars ; en 1967, 27 individus en mars et 54 à la mi-avril. Il faut noter que les traitements chimiques à l'aide d'insecticides de faible rémanence n'empêchent pas la reconstitution rapide des populations : à Kersulguen, à la mi-avril 1967, on trouve 54 individus en moyenne par feuille (échantillon de 40 feuilles) ; le 13 juin, à la suite d'un traitement insecticide effectué le 10 mai, on retrouve 33 Pucerons en moyenne par feuille (échantillon de 30 feuilles). Il en a été de même à Keravel en juin 1966.

Une seconde différence, relative aux femelles vivipares ailées, existe entre ces deux stations et Vézendoquet : un vol important a lieu en mai ou juin (1^{er} juin 1966 à Keravel, 10 mai 1967 à Kersulguen) mais il précède en général celui de Vézendoquet et est suivi d'une deuxième période de production d'ailés qui se situe entre novembre et février, donc en plein hiver (tabl. 4) ; les haies brise-vent jouent alors pleinement

TABLEAU 4

Composition de quelques populations d'adultes de Capitophorus horni, sur Artichaut, à Roscoff (Finistère), montrant l'importance de la production d'ailés et l'absence des sexués

Date	Lieu de prélèvement	Nombre de Pucerons adultes				Total des individus dénombrés
		V. A.	V. L.	Mâles	Ovipares	
18-11-65	Kersulguen	105	2	0	0	210
18-11-65	Keravel	107	14	0	0	318
18-11-65	La Montagne	324	24	0	0	1 088
8-12-65	Kersulguen	395	7	0	0	588
4- 2-66	Kersulguen	907	82	3	1	1 056
9-11-67	Keravel	269	77	0	0	(1)
9-11-67	Kersulguen	65	96	1	0	(1)

(1) Dans ce cas, le dénombrement total n'a pas été effectué.

V. A. : Femelles vivipares aptères. V. L. : Femelles vivipares ailées.

leur rôle d'abri contre les vents froids et il nous a été possible de récolter de nombreux ailés en plein mois de janvier, au pied de haies d'*Escallonia* à Kersulguen. A Rennes, cette seconde période de production d'ailés existe, cependant elle est plus courte et les premières gelées importantes de décembre marquent sa fin (tabl. 6). Le rôle de ces ailés dans la dissémination de l'espèce est forcément très limité à cause des conditions climatiques saisonnières apparemment défavorables aux migrations.

Le tableau 4 montre clairement que la tendance à former des sexués est pratiquement inexistante dans la région de Roscoff. Le seul échantillon qui porte les deux catégories de sexués, celui de Kersulguen du 4 février 1966 a été prélevé une quinzaine

de jours après qu'une forte gelée ait anéanti tout l'appareil foliaire des artichauts ; il était constitué de feuilles jeunes, en général entières et non découpées ; de toute façon, il est peu probable que des œufs pondus si tardivement soient viables, la rupture de diapause ne pouvant plus intervenir du fait du réchauffement de l'atmosphère à partir de mars.

B. — *Étude des populations amphisexuelles de C. horni sur Artichaut et sur Chardon à Rennes*

1. *Date d'apparition des sexués.*

Pour essayer de préciser la part qui revient au climat et à la plante, à Roscoff et à Rennes, nous avons rapporté de La Montagne, près de Keravel, en avril 1966, une soixantaine d'œilletons que nous avons replantés dans le jardin de la Station de Rennes, à proximité de chardons (*C. arvense*), poussant naturellement. Ces drageons n'avaient pas été débarrassés de leur population d'aphides.

A l'automne 1966, une première série de prélèvements nous a permis de récolter quelques sexués sur *C. arvense* aux dates suivantes :

26-10-66 :	4	femelles vivipares aptères	+	0	ovipare
2-11-66 :	0	— — —	+	4	ovipares
7-11-66 :	23	— — —	+	3	ovipares

Cette étude a été reprise et complétée en 1967 ; les prises d'échantillon ont été pratiquées en trois endroits différents :

- 1° à l'entrée du jardin, à environ 50 m de la plantation d'artichauts,
- 2° dans le jardin, auprès des artichauts dans un rayon inférieur à 15 m,
- 3° à la ferme expérimentale de la Station, distante d'environ 2 km et loin de toute plantation d'artichauts.

TABLEAU 5

Composition des populations de Capitophorus horni sur Cirsium arvense, à Rennes, à l'automne 1967

Date	N° du lieu de prélèvement (¹)	Nombre de rosettes par échantillon	Nombre moyen de Pucerons sur 10 rosettes					
			L.	V. A.	N.	V. L.	Mâles	Ovipares
27-10-67	3	48	8,7	0,4	6,8	0	1,7	4,8
31-10-67	1	10	37,0	3	0	0	0	0
31-10-67	2	13	(²)	12,3	18,5	1,5	3,8	33
8-11-67	2	18	44,4	12,2	10,5	1,1	0,5	10
10-11-67	3	60	5	0,1	0,5	0	0,1	2,7

N. : Nymphes. L. : Larves de femelles vivipares aptères.

V. A. : Femelles vivipares aptères. V. L. : Femelles vivipares ailées.

(¹) Pour l'interprétation des numéros, voir le texte.

(²) Le dénombrement des larves (L.) n'a pas été effectué dans ce cas.

Le tableau 5 fournit la composition des populations rencontrées dans ces prélèvements.

Ces sondages montrent que le nombre d'individus présents sur les chardons proches des artichauts (station n° 2) est beaucoup plus important que dans les stations n° 1 et 3 : ceci est particulièrement net en ce qui concerne les femelles vivipares adultes aptères et à un moindre titre, les femelles ovipares. On peut alors penser qu'il y a eu des contaminations, à partir des artichauts, par des ailés qui ont pondu des individus vivipares dont le nombre peut alors masquer la tendance à l'holocyclie stricte qui semble être la règle sur les chardons éloignés des artichauts (station n° 3), dans des conditions que nous jugeons « naturelles ». Mais il se peut aussi que la catégorie « femelles vivipares adultes aptères » renferme à la fois des virginipares aptères et des sexupares. HILLE RIS LAMBERS (1953) a en effet montré que les sexupares sont aptères et la distinction entre les deux formes est très difficile.

TABLEAU 6

Composition des populations adultes de Capitophorus horni sur Artichaut, à Rennes, à l'automne 1967

Dates	Nombre de Pucerons sur 10 feuilles (1)			
	V. A.	V. L.	Mâles	Ovipares
26-10-67.....	56	6,3	0	0
31-10-67.....	120	52,3	1	1
20-11-67.....	103	85	11	3
24-11-67.....	197	88	8	6
1-12-67.....	284	95	22	7

(1) — Chaque échantillon comprenait 30 feuilles.

Les résultats sont quelque peu différents, sur *C. scolymus*, comme l'indiquent le tableau 6 et la figure 4.

1° Nous pouvons noter, en effet, une production d'ailés très importante sur Artichaut, fin octobre, tandis qu'à cette époque on en trouve toujours très peu sur les Chardons. Ceci pourrait confirmer leur rôle extrêmement limité dans la dissémination de l'espèce, en automne. Il faut donc considérer que, s'il y a eu contamination de proche en proche, des Artichauts vers les Chardons, elle a eu lieu au plus tard à la fin de l'été.

2° Sur les Chardons de la ferme de la Station (tabl. 5) le nombre moyen des nymphes, observées sur 10 rosettes, décroît de 6,8 à 0,5 entre le 27 octobre et le 10 novembre et celui des mâles de 1,7 à 0,1 alors que celui des ailés et des mâles ne cesse d'augmenter sur Artichaut pendant le même temps.

3° Sur Chardon, les sexués apparaissent plus tôt que sur Artichaut, aussi bien à la ferme expérimentale que dans le jardin de la Station.

4° Enfin il faut noter que sur Chardon, la catégorie des individus sexués est la seule que l'on rencontre à la fin de l'automne tandis que sur Artichaut, le pourcentage des sexués par rapport aux femelles vivipares aptères demeure toujours très faible (fig. 4).

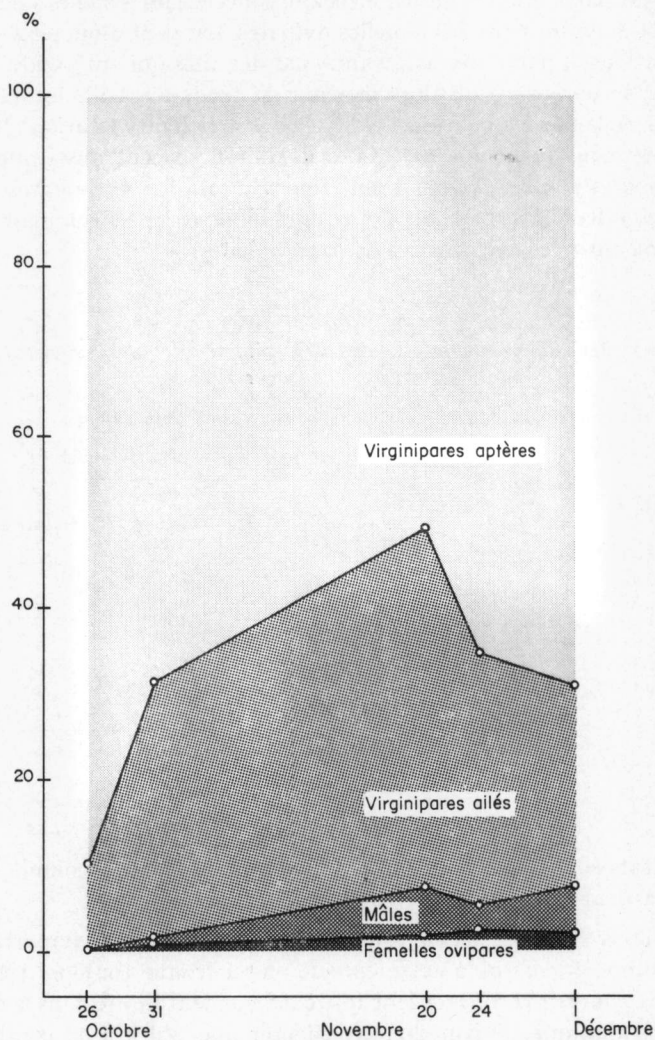


FIG. 4. — Pourcentage des différentes catégories de Pucerons adultes dans des populations de *Capitophorus horni*, sur Artichaut, à Rennes, à l'automne 1967

2. Localisation des œufs sur *C. arvensis*.

Nous avons pu observer le processus de ponte au laboratoire. Le dépôt des œufs ne se fait pas au hasard, mais il est la conséquence de la recherche, par la femelle, d'une position stéréotaxique qui lui permet de « s'arrimer » solidement sur le substrat. Les schémas de la figure 2 montrent quelques localisations des pontes sur Artichaut et sur Chardon.

L'œuf fraîchement pondu est jaune orangé et très brillant. Il peut garder cette couleur plusieurs jours avant de devenir noir, comme la plupart des œufs d'aphides.

Nous avons analysé les différentes localisations des œufs et leurs caractéristiques dans 4 des 5 prélèvements mentionnés au tableau 5. Il ressort du tableau 7 que les

TABLEAU 7

Localisation des pontes de Capitophorus horni sur Cirsium arvense, à Rennes, en 1967

Couleur des pontes	Localisation des pontes				Total
	Pétiole	Nervure des feuilles	Limbe des feuilles		
			Face inférieure	Face supérieure	
Jaunes	20	15	45	9	89
Noires	<u>4</u>	<u>2</u>	<u>10</u>	<u>4</u>	<u>20</u>
Total	24	17	55	13	109

œufs jaunes sont plus nombreux que les œufs noirs (89 et 20 respectivement). Cependant le calcul du χ^2 (malgré certains effectifs théoriques un peu faibles) montre que les distributions des œufs noirs et jaunes sur le substrat ne diffèrent pas significativement au seuil 5 p. 100. Les résultats confirment d'autre part que la ponte se fait de préférence à la face inférieure des feuilles (HILLE RIS LAMBERS, 1953) et nous pouvons ajouter que même les très jeunes feuilles du centre de la rosette peuvent porter des œufs.

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSION

REMAUDIÈRE (1953) a séparé les « cycles des espèces évoluant avec changement d'hôte régulier » en deux groupes selon que les mâles apparaissent sur l'hôte primaire (type B) ou sur l'hôte secondaire (type B').

Habituellement l'anholocyclie paramonœcique (type B'₅) dérive plutôt d'un cycle de type B'₂ (holocyclie hétéroœcique) et l'une de ses caractéristiques est sa réversibilité. Ce phénomène est bien connu dans le cas de *Myzus persicae* (SULZ.) et le maintien de colonies hivernales de cette espèce dans l'ouest de la France a déjà été signalé par POISSON en 1940.

Dans le cas présent, on observe le passage d'un cycle de type B'₆ (*C. horni* a été décrit comme holocyclique paramonœcique sur hôte secondaire) à un anholocycle de type B'₅, dans les conditions naturelles. Cette transformation peut être effectuée en laboratoire pour certaines espèces telles que *Macrosiphum* (= *Sitobion*) *avenae* (F.) par exemple.

REMAUDIÈRE (1953) a fourni un schéma montrant les différentes voies évolutives suivies par les Pucerons. Ce schéma établit seulement un pont hypothétique

entre les espèces paramonœciques holocycliques sur hôte secondaire, et les espèces paramonœciques anholocycliques sur hôte secondaire. Nos résultats prouvent clairement que ce passage ne peut plus être considéré actuellement comme une simple supposition mais comme une réalité.

En ce qui concerne *C. horni*, deux facteurs importants se conjuguent pour donner naissance à un anholocycle facultatif sur Artichaut, dans la région de Roscoff :

1° les conditions climatiques très douces de la Bretagne en hiver favorisent la survie des populations agames, d'autant plus que l'amplitude des écarts thermiques n'est jamais forte ;

2° le second facteur est certainement aussi important : l'Artichaut, contrairement au Chardon, garde son appareil végétatif aérien durant l'hiver. La culture triennale, pratiquée dans la zone de production, favorise donc la permanence des plantes tout au long de l'année.

Pendant cette transformation de cycle est réversible comme dans le cas des cycles de type B'₂ : nous avons ainsi obtenu des mâles sur des drageons rapportés de La Montagne en novembre 1965, repiqués en pots dans une serre ouverte et laissés pendant plus d'un mois, jusqu'à leur dépérissement total : 14 mâles et 85 virginipares ailés ont été obtenus dans le courant du mois de décembre.

Le fait essentiel mis en évidence est la désynchronisation de l'apparition des sexués sur Chardon et sur Artichaut. Les facteurs abiotiques (température et photopériode) qui sont classiquement reconnus comme déterminants, dans l'apparition des sexués, se sont pourtant exercés de la même façon sur ces deux espèces végétales.

Pour rendre compte des faits observés, il semble indispensable de faire intervenir un troisième facteur, l'état physiologique de la plante-hôte. L'état de dépérissement des parties aériennes du chardon à l'automne (dessèchement de la hampe florale et flétrissement des rosettes) favorise ou accélère l'apparition des sexués. Inversement l'état de croissance active des drageons d'Artichaut pendant la même période exerce une action inhibitrice sur le déclenchement de la reproduction sexuée. Ce phénomène est confirmé par l'expérience dans laquelle des drageons d'artichauts dépérissants ont assuré la formation de nombreux mâles et virginipares ailés. Il apparaît en effet qu'en automne, l'action conjuguée des facteurs abiotiques et de la croissance active des drageons d'Artichaut favorise plutôt l'apparition d'une génération de formes ailées parthénogénétiques que celle de sexués, tels que ceux que l'on rencontre dans un holocycle. Ces hypothèses seraient pleinement vérifiées par une expérience réciproque dans laquelle la croissance des rosettes de Chardon serait maintenue durant l'hiver en vue d'inhiber la production des sexués.

Des observations du même ordre peuvent être faites sur d'autres aphides : chez *Macrosiphum rosae* L. les sexués apparaissent en automne sur les rosiers sauvages qui perdent normalement leurs feuilles en octobre ou novembre, selon l'altitude (REMAUDIÈRE *in litt.*) ; des colonies de Pucerons vivipares se maintiennent, par contre, jusqu'aux premières gelées importantes de l'hiver sur les hybrides cultivés qui perdent leurs feuilles très tardivement ou qui peuvent même les conserver jusqu'au printemps (HILLE RIS LAMBERS, 1939). REMAUDIÈRE (1953) a signalé en outre l'apparition, sur des rosiers hybrides à feuilles persistantes, de formes intermédiaires aberrantes ; femelles vivipares ailées munies de tibias renflés et ornés de pseudosensoriae. Ces formes anormales semblent bien être l'expression de l'antagonisme existant entre

les facteurs abiotiques et les facteurs liés à la physiologie de l'hôte, les premiers favorisant, les seconds inhibant l'apparition des formes sexuées. Nous avons récolté nous-même une femelle ovipare (sur Artichaut à Rennes, le 31 octobre 1967) qui ne présentait qu'une seule patte postérieure renflée portant des pseudosensoriae; l'autre patte était semblable à celle d'une femelle vivipare.

La production des femelles vivipares ailées de printemps semble davantage liée aux modifications physiologiques subies par la plante, lors de la formation des capitules, qu'au facteur classique de la surpopulation. L'effet de la surpopulation sur une plante vigoureuse comme l'Artichaut ne peut s'exercer aussi activement que sur une plante grêle. Le rapport de la masse des Pucerons à la masse du végétal qui les supporte demeure toujours peu élevé dans le cas de l'Artichaut et, comme nous l'avons montré, les feuilles jeunes sont relativement peu infestées en raison de leur pilosité. La plante est alors physiologiquement moins affectée par la présence de populations importantes de *Capitophorus* que par le déséquilibre momentané provoqué par le rapide développement des capitules.

Reçu pour publication en janvier 1969.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Directeur de la ferme expérimentale S. E. I. de Vézendoquet et son personnel pour les facilités qu'ils nous ont accordés, M^{lle} G. THOIZON, de l'Institut Pasteur de Paris qui a déterminé les champignons parasites et M. G. REMAUDIÈRE, du même Institut, pour l'aide qu'il nous a apportée lors de notre étude et de la rédaction de ce mémoire.

SUMMARY

FIRST OBSERVATIONS ON THE BIOLOGY OF *CAPITOPHORUS HORNI* BÖRNER (HOMOPTERA APHIDIDAE) IN WESTERN FRANCE.

The aphid *Capitophorus horni* BÖRNER has been scientifically described for the first time in France. It is, nevertheless frequently found in the west on artichokes (*Cynara scolymus* L.) and is in fact, the plant's principal pest.

While this species has always been considered as holocyclic and paramonocicous on its secondary host (thistles of the *Cirsium* genus), it is characterized in Brittany (Atlantic type climate) by the gradual disappearance of its sexual cycle on the artichoke. At Rennes, where the climatic conditions are more continental than in the artichoke-growing area, its holocycle on *Cirsium arvense* SCOP. is obligatory, whereas on *Cynara scolymus* it is of only minor importance. In the typically Atlantic climate of Roscoff the anholocycle has become, biologically speaking, only possible on the artichoke; moreover, in Rennes, the sexuales appear later on the artichokes than on the thistles. Finally, on the artichoke, the appearance of the first winged, viviparous females in spring coincides not with the maximum density of aphid population on the leaves but with the formation of the inflorescence; a second winged generation develops in autumn on the artichoke but not on the thistle.

Regional climate on the one hand, and phenological evolution on the other, thus appear to play a predominant role in determining the sexual cycle and production of winged viviparous individuals.

ZUSAMMENFASSUNG

ERSTE BEOBSACHTUNGEN ÜBER DIE BIOLOGIE
VON *CAPITOPHORUS HORNII* BÖRNER (HOMOPTERA : APHIDIDAE)
IN WESTFRANKREICH

Die Blattlaus *Capitophorus horni* BÖRNER ist zum erstenmal in Frankreich erwähnt. Sie tritt jedoch sehr häufig, sogar als Hauptschädling der Artischocke (*Cynara scolymus* L.) im Westen Frankreichs auf.

Obwohl diese Art bisher als holozyklisch und paramonözisch auf sekundärem Gastgeber (Disteln der Gattung *Cirsium*) betrachtet wurde, charakterisiert sie sich im Gegensatz dazu in der Bretagne (atlantisches Klima) durch ein progressives Verschwinden des sexuierten Zyklus auf der Artischocke : in Rennes, wo die klimatischen Verhältnisse kontinentaler sind als in dem Artischockenanbaugebiet, ist die Holozykli auf *Cirsium arvense* SCOP. obligatorisch, jedoch von geringer Bedeutung auf *Cynara scolymus*. In Roscoff mit typisch atlantischem Klima ist die Anholozykli auf der Artischocke zur einzigen biologischen Möglichkeit geworden. Ausserdem erscheinen in Rennes die Sexuierten auf der Artischocke später als auf der Distel. Schliesslich trifft auf der Artischocke das Erscheinen der ersten geflügelten viviparen Weibchen im Frühjahr mit der Blütenbildung zusammen und nicht mit der maximalen Populationsdichte der Läuse auf den Blättern. Eine zweite Produktion Geflügelter findet im Herbst auf der Artischocke, nicht aber auf der Distel statt.

Das Klima einerseits und die phänologische Entwicklung andererseits scheinen folglich eine vorwiegende Rolle in der Bestimmung des sexuellen Zyklus und der Produktion der viviparen Geflügelten zu spielen.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BODENHEIMER F. S., SWIRSKI E., 1957. *The Aphidoidea of the Middle East*, 378 pp., The Weizmann Science Press of Israel, Jérusalem.
- BÖRNER C., 1931. Mitteilungen über Blattläuse. *Anz. Schädlingsskde*, **7**, 129.
- HILLE RIS LAMBERS D., 1939. Contributions to a monograph of the *Aphididae* of Europe. *Temminckia*, **4**, 1-134.
- HILLE RIS LAMBERS D., 1953. Contributions to a monograph of the *Aphididae* of Europe. *Temminckia*, **9**, 132-174.
- LABEYRIE V., 1957. Les insectes ravageurs de l'Artichaut. *Rapp. Journ. maraîch. mérid.*, 16 pp.
- POISSON R., 1940. Sur la reproduction agame de *Myzodes persicae* SULZ. en Bretagne. *C. R. Soc. Biol.*, **133**, 634-636.
- REMAUDIÈRE G., 1953. Nutrition et variations du cycle évolutif des *Aphidoïdes*. *Rev. Pathol. vég. Entomol. agric.*, **32**, 190-207.
- ROBERT Y., 1969. Les Puceros de l'Artichaut dans l'Ouest de la France : sur une espèce particulièrement nuisible, *Capitophorus horni* BÖRNER. *C. R. Acad. Agric., France* (sous presse).

ÉTUDE DU COMPLEXE PARASITAIRE
TRIOZA URTICAE L. (HOMOPTÈRE, *PSYLLIDAE*)
TETRASTICHUS UPIS WALK.
(HYMÉNOPT. *TETRASTICHIDAE*) ⁽¹⁾

J.-C. ONILLON

Station de Recherches de Lutte biologique et de Zoologie,
Centre de Recherches agronomiques de Provence, 06 - Antibes
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

L'auteur étudie d'abord la biologie de *Trioza urticae* et met l'accent sur l'action de la photo-période et de la température sur le développement, la longévité et la fécondité de l'espèce. Il décrit ensuite le cycle biologique de *Tetrastichus upis* en soulignant l'influence stimulatrice de l'hôte sur la fécondité du parasite.

INTRODUCTION

La majeure partie des travaux réalisés sur les *Psyllidae* l'a été sur des espèces appartenant au genre *Psylla* (*P. pyri* L., *P. pyricola* FOERST., *P. mali* SCHM.) généralement inféodées à des plantes cultivées, presque exclusivement ligneuses et à feuilles caduques. Par contre, de nombreuses espèces de *Psylles* vivant sur des plantes basses spontanées n'ont fait l'objet que d'observations limitées et leurs parasites ont seulement été signalés. C'est le cas de *Trioza urticae* L. qui présente de nombreuses pullulations sur *Urtica dioica* L. (Labiées) bien contrôlées par un chalcidien *Tetrastichus upis* WALKER.

Trioza urticae L. a été décrit par LINNÉ en 1758 sous le nom de *Chermes urticae* L. Il a été signalé par la suite en Allemagne par FOERSTER en 1948, en Autriche par LOW en 1877, en Suède par OSSIANNILSON en 1942 et en Suisse par SCHAEFFER en 1949. Son aire de répartition s'étendrait, d'après DOBREANU et MANOLACHE (1962), de la Suède à l'Italie septentrionale et des Pyrénées aux contreforts de l'Himalaya. ZANGHERI (1954) signale la présence d'un parasite *Tetrastichus obscuratus* ANDRÉ.

(1) Ce travail a été effectué au Laboratoire d'Entomologie de la Faculté des Sciences de Toulouse.

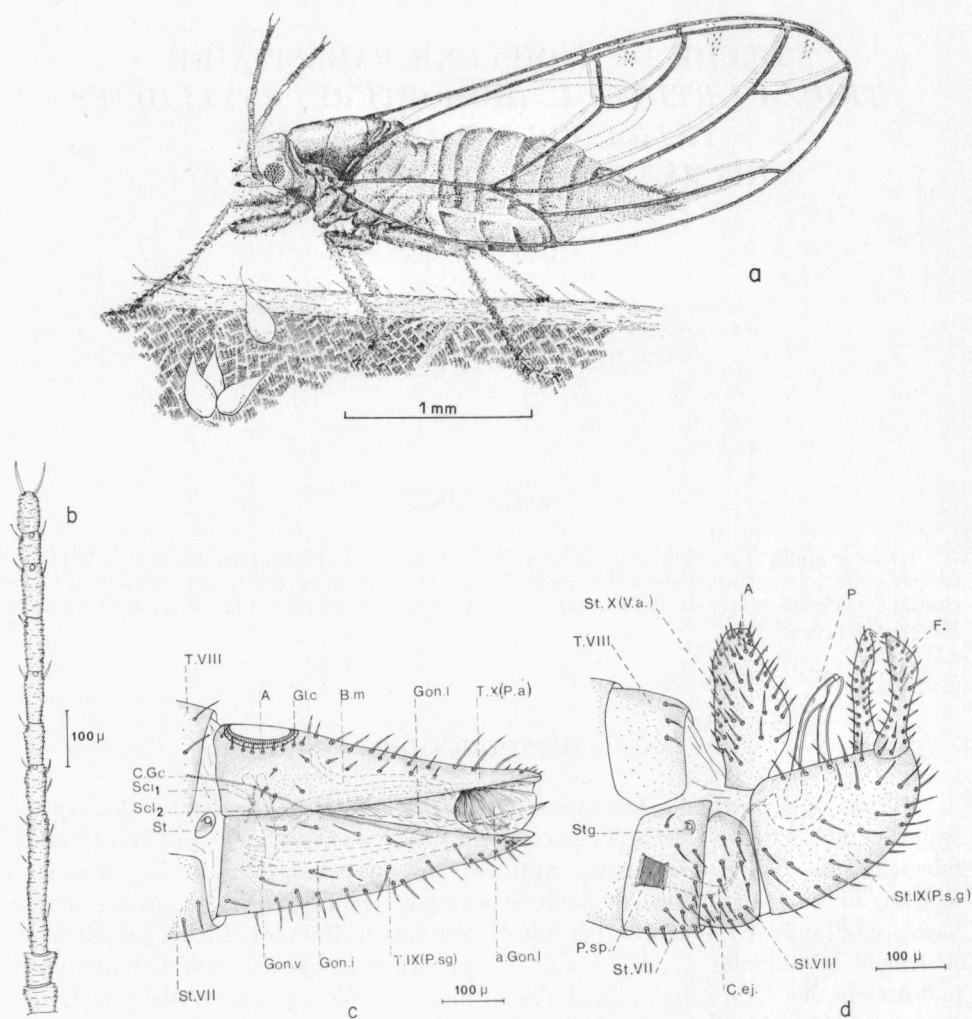


FIG. 1 — a) *Trioza urticae* femelle avec ses œufs — b) Antenne de l'adulte — c) Complexe génito-anal femelle (A : Anus ; a. gon. l. : Ailes des gonapophyses latérales ; B.m. : baguette médiane ; C.Gc. : canal de la glande cémentaire ; Gl. c. : glandes cirières ; Gon. i, l, v. : gonapophyses interne, latérale, ventrale ; P.a : plaque anale ; P.sg. plaque sous-génitale ; Scl 1 et 2 : premier et deuxième sclérite ; St VII : 7^{ème} sternite ; Stg. : stigmate ; T. VIII, IX, X : huitième, neuvième et dixième tergite) — d) Complexe génito-anal mâle (C.ej : canal éjaculateur ; F : forceps ; P : pénis ; P. sp. : pompe spermatique)

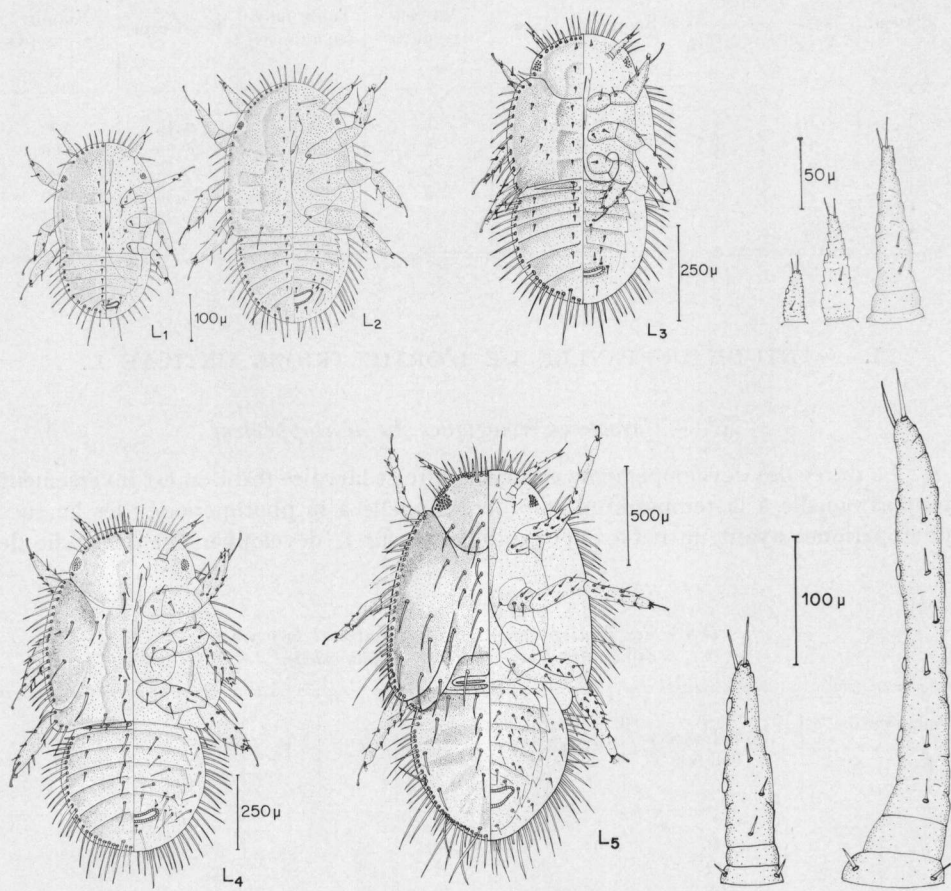


FIG. 2 — Stades larvaires de *Trioza urticae* avec les antennes correspondantes
(L₁, L₂, L₃, L₄, L₅ : larves du premier, deuxième, troisième, quatrième et cinquième stade).

Les caractères morphologiques larvaires et imaginaux ayant déjà été décrits (ZANGHERI, 1954; ONILLON, 1967) nous nous limiterons dans cette étude à la représentation schématique (fig. 1 et 2) et aux critères de détermination (tabl. 1) des stades de *Trioza urticae* L.

TABLEAU I
Critères de détermination des stades de T. urticae L.

Stades	Antennes		Bourgeons alaires	Articles des pattes	Taille moy. (en microns)	Écart-type	Nombre de mesures
	Articl.	Sensoria					
L ₁	1	1	Inexistants	3	377,8	24,16	100
L ₂	1	1	Individualisés	3	515,8	29,99	100
L ₃	2	2	Ébauches	3	811,8	43,18	100
L ₄	3	3	Bien développés	3	1 157,0	76,36	100
L ₅	3	4	Se chevauchant	4	1 788,7	70,32	100

I. — ÉTUDE DU PSYLLE DE L'ORTIE *TRIOZA URTICAE* L.

A. — Caractères écologiques du développement

La durée des développements embryonnaire et larvaire (tabl. 2) est inversement proportionnelle à la température et proportionnelle à la photopériode ; les longues photopériodes ayant un net « effet inhibiteur » sur le développement de Psylle de

TABLEAU 2
Durée des développements embryonnaire et larvaire à différentes températures et photopériodes

Température °C		Photopériodes (heures)	Œuf	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅	Total (jours)
Jour	Nuit								
7	5	16	61	25	21,5	25	29	33	194,5
		12	56	24	21	25	28	32	186
		8	50	22	20	23	26	30	171
15	13	16	16	9	8,5	10	12	15	70,5
		12	14,5	8	8	9,5	11,5	14,5	66
		8	13,5	7	6	8	10	13	57,5
21	18	16	10	6	6,5	6,5	8	10,5	47,5
		12	9	5	5,5	6,5	7,5	9,5	43
		8	8,5	4,5	4,5	5,5	6,5	8	37,5
28	25	16	7	4	4	5	6	8	34
		12	6,5	3,5	3,5	4,5	5,5	7	30,5
		8	6	3	3	4	4,5	6	26,5

l'Ortie. Les conditions expérimentales étaient les suivantes : 800 lux d'éclairement artificiel réalisés au moyen de 2 tubes fluorescents de 40 watts type « Lumière du jour ».

D'après la théorie de la constante thermique définie par BONNEMAISON en 1946, pour des températures supérieures à 8,5°C, l'incubation des œufs de *T. urticae* nécessite la somme des températures effectives suivantes :

8 heures : 140° jours ; 12 heures : 150° jours ; 16 heures : 165° jours

La larve, comme l'œuf, peut évoluer dans une vaste échelle des températures. Le seuil thermique supérieur dépasse 28°C pour les œufs et les larves du premier stade (le pourcentage de mortalité à cette température étant inférieur à 30 p. 100). Pour les larves des stades suivants, ce seuil semble plus faible. Les pourcentages de mortalité notés étant les suivants :

14 p. 100 à 28°C

53 p. 100 à 28,5°C

De même, le développement larvaire nécessite 468° jours à 8 heures, 555° jours à 12 heures et 608° jours à 16 heures d'éclairement. Pour des températures inférieures à 8,5°C, la théorie de la constante thermique n'est pas applicable car la vitesse de développement n'est plus linéaire. Entre 12°C et 28°C la croissance de tous les stades obéit à la même loi hyperbolique d'action de la température (vitesse de développement linéaire) ; il devient possible de calculer, le seuil thermique théorique étant de 4,6°C, la somme des températures effectives nécessaire pour le développement total de l'insecte depuis le dépôt de l'œuf jusqu'à la mue imaginale.

TABLEAU 3

*Somme des températures effectives nécessaires
au développement total de T. urticae L.*

		Photopériodes		
		8 heures	12 heures	16 heures
Températures	15°	598	686	773
	21°	606	705	779
	28°	620	725	807
Moyennes en degrés/jours		608	705	786

Le seuil pratique de développement pour l'œuf et les stades larvaires de *T. urticae* est de 1,8°C.

B. — Étude de la reproduction

La durée de maturation des ovaires varie dans de larges proportions en fonction de la température ; elle est respectivement de 20 jours à 7°C ; 7,5 jours à 15°C ; 4,2 jours à 21°C et 3,4 jours à 28°C.

La ponte pour *T. urticae* n'est pas cyclique comme BONNEMAISON et MISSONNIER (1956) l'ont signalé chez *Psylla pyri* L. mais continue et régulière.

A 7°C, la fécondité totale est faible. A 15°C, et sous 8 heures d'éclairement, les femelles de *T. urticae* pondent en moyenne près de 1 300 œufs et possèdent encore à leur mort de nombreux œufs mûrs. La femelle du Psylle de l'Ortie qui a pondu 1 479 œufs, soit le maximum sous ces conditions expérimentales, présente à la dissection des ovarioles vides.

Le tableau 4 montre que la fécondité totale des femelles est inversement proportionnelle à la température pour $t > 15^{\circ}\text{C}$. A cette température, la différence est très significative entre 8 heures d'une part et 12 et 16 heures d'autre part :

$$F = 14,77 > F_{0,01} = 8,28$$

A 21°C, la différence est très significative entre 8 et 12 heures :

$$F = 24,16 > F_{0,01} = 8,28$$

et significative entre 12 et 16 heures d'éclairement :

$$F = 5,44 > F_{0,05} = 4,41.$$

La durée de l'éclairement intervient donc sur la fécondité totale dans des limites thermiques précises : de 15°C à 21°C. Par contre, l'intensité de la ponte journalière est proportionnelle à la température. C'est à 28°C qu'a été pondu le maximum d'œufs (56) en un jour.

Les longues photopériodes, pour une même température, ne semblent pas intervenir sur la longévité des femelles de *T. urticae*. Celle-ci est inversement proportionnelle à la température.

TABLEAU 4

TABLEAU 5

Fécondité (tabl. 4) et longévité (tabl. 5) des femelles de *T. urticae* à différentes températures et photopériodes

		Température (°C)						Température (°C)			
		7	15	21	28			7	15	21	28
Photo-période	8 h	137	1 295	503	356	Photo-période	8 h	90	54	32	25
	12 h	145	1 010	600	310		12 h	82	57	35	21
	16 h	214	950	690	307		16 h	81	61	36	19

La longévité des mâles est inférieure à la moitié de celle des femelles pour des températures comprises entre 7°C et 21°C et n'est plus que le sixième pour une température de 28°C. Les mâles de *T. urticae* sont plus sensibles que les femelles aux fortes températures.

C. — *Cycle biologique*

Les observations biologiques ont été faites dans la région toulousaine en deux biotopes différents du point de vue climatique : sur les lisières des bois des coteaux de Pouvoirville exposés au nord-est avec faible hygrométrie et en bordure des bois de Blagnac riverains de la Garonne, orientés au sud-ouest avec forte hygrométrie.

Les adultes de la première génération de *T. urticae* se rencontrent fin janvier début février sur l'extrémité des tiges d'Ortie. L'accouplement n'est possible qu'après maturation complète des ovaires. Il peut avoir lieu par temps pluvieux et à basse température (+ 3°C).

Les premiers œufs ont été aperçus le 28 janvier 1966 et le 16 janvier 1967 par une température moyenne de 8 à 9°C. Ils sont déposés groupés ou isolés sur la face inférieure de la feuille d'Ortie. Les jeunes larves éclosent début mars et le développement larvaire se poursuit jusqu'à la mue imaginale qui se produit début mai, époque où la température n'excède pas 14°C. La première génération s'étend sur trois mois et demi et la seconde sur deux mois et demi (du 10 mai au 25 juillet). La température moyenne pendant cette dernière période oscille autour de 21°C.

Lors des chaudes journées de juillet et août, par suite de la forte chaleur, les adultes de *T. urticae* quittent les biotopes par trop ensoleillés et effectuent de courts déplacements vers des lieux plus frais. C'est ainsi qu'à Blagnac, dans les bois ombragés riverains de la Garonne, la densité de la population est passée brusquement en août de 5 à 35 et 40 adultes par pied d'Ortie. Lorsque l'intensité de l'insolation diminue, les Psylles retournent vers des lieux précédemment délaissés. La troisième génération s'étend sur un peu moins de six mois (20 août-13 février). Au fur et à mesure de la baisse progressive de la température (16°C en octobre, 9°C en novembre) et de l'arrêt de croissance des jeunes pousses d'Ortie, un net ralentissement est noté dans la succession des stades.

A l'entrée de l'hiver, les larves des deux derniers stades se groupent sur les rameaux issus du développement des bourgeons axillaires. Elles hivernent sur les feuilles de ces rameaux. Le dernier stade larvaire de *T. urticae* supporte sans difficulté des températures voisines de 0°C lors des hivers doux. Pour des températures descendant progressivement en dessous de 0°C, les larves migrent sur les stolons de l'Ortie. Le phénomène a été vérifié au laboratoire dans une enceinte où la température baissa graduellement de + 8°C à - 10°C. Ramenées à une température de + 16°C ces mêmes larves effectuèrent leur mue imaginale 10 jours plus tard.

Une action indirecte de la température peut être notée lors des fortes gelées nocturnes du mois de janvier. L'action brutale du froid provoque une nécrose avec recroquevillement des organes végétatifs de l'Ortie, responsable d'une forte mortalité larvaire : des pourcentages voisins de 65 à 70 p. 100 ont été observés au lendemain de ces fortes gelées.

II. — ÉTUDE DE *TETRASTICHUS UPIS* WALKER ⁽¹⁾

L'aire de répartition de *T. upis* serait limitée à la Grande-Bretagne et à la France pour DE DALLA TORRE (1898), à l'Angleterre et à l'Italie pour DOMENICHINI (1964), donc à la partie la plus occidentale et méridionale de l'aire de répartition géographique de son hôte *Trioxa urticae* L.

NIKOL'SKAYA (1952) a donné la description du genre et DOMENICHINI (1964) les caractères spécifiques. Les caractères imaginaux et larvaires ont déjà été précisés (ONILLON, 1967).

A. — Étude biologique

Dès son éclosion qui s'effectue par un orifice dans le tiers antérieur de la larve de *T. urticae*, la femelle de *T. upis* est apte à la ponte. Elle parcourt les feuilles de l'Ortie à la recherche de l'hôte, aidée en cela par la succession de gouttelettes de miellats excrétées par les larves du Psylle. Dès la perception de l'hôte, une exploration antennaire minutieuse précède de peu l'oviposition. La femelle du parasite insère son ovipositeur sous la face sternale de la larve et dispose son œuf entre les *coxae* des pattes II et III. Plusieurs œufs peuvent être pondus sur une même larve.

L'œuf anhydropique de *T. upis* est petit et translucide. La durée de l'incubation varie suivant les conditions thermiques. A 7°C, l'incubation de l'œuf ne peut avoir lieu : au bout d'une dizaine de jours, celui-ci se pigmente en brun et se mélanise rapidement. A 15°C et 21°C, l'incubation demande respectivement 3 et 2 jours. A 28°C, aucun des œufs n'a subi d'évolution normale.

La jeune larve est discernable peu de temps avant l'éclosion par la présence des mandibules au pôle apical de l'œuf, formant deux points sombres. Dès son éclosion, elle enfonce ses mandibules dans la cavité générale de l'hôte. A la fin du premier stade, elle augmente de volume et les téguments se fendillent dorsalement ; sa partie antérieure se dégage ; les mandibules assurent une nouvelle prise et l'ancienne cuticule est rejetée sous la larve qui la garde collée contre elle. Le même processus se retrouve à toutes les mues et les larves de *T. upis* en fin de développement ont souvent encore les trois exuvies des stades précédents accolées sur la face ventrale.

Le quatrième stade se caractérise par une utilisation croissante de son extrémité abdominale dont les spicules prennent appui sur la face ventrale de l'abdomen de l'hôte. A la fin de ce stade, l'augmentation de taille de la larve de *T. upis* est telle qu'elle interdit tout mouvement ambulateur de la part du Psylle. De l'extrémité abdominale de la larve du parasite perlent des gouttes de sécrétion malpighienne qui sont reprises par les mandibules, et le cocon nymphal s'érige fixant les bords périphériques de la larve de *T. urticae* au substrat. L'édification du cocon nymphal demande de 16 à 20 heures. La larve du dernier stade, une fois le cocon nymphal tissé, ingère le contenu de l'hôte.

La durée des développements embryonnaire et larvaire est consignée dans le tableau 6.

⁽¹⁾ Nous remercions vivement G. DOMENICHINI qui, par l'intermédiaire de l'O. I. L. B., a bien voulu déterminer le lot de *Tetrastichus upis* WALK.

La durée totale du développement est de 25 jours à 15°C et de 18 jours à 21°C, ce qui permet d'obtenir respectivement 13 et 18 générations annuelles en laboratoire.

Des observations faites dans la nature nous ont montré que les larves parasitées du cinquième stade de *T. urticae* donnaient naissance à des femelles et que, de celles du quatrième stade sortaient uniquement des mâles de *T. upis*. Une expérimentation faite au laboratoire a précisé que le déterminisme du sexe était en relation avec le stimulus « taille de l'hôte ». Toutefois, après plusieurs générations successives en laboratoire, cette aptitude à déterminer le sexe en fonction de la taille de l'hôte s'atténuait quelque peu.

TABLEAU 6

Durée des développements embryonnaire et larvaire de T. upis (en jours)

	Oeufs	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄
15°C	3	2,5	3	3	4
21°C	2	1-1,5	2	2	3

Une autre conséquence du choix du sexe est l'allongement de la durée de la nymphose pour les larves issues d'œufs diploïdes, 7,5 jours contre 5,5 jours pour celles issues d'œufs haploïdes.

La fécondité de *T. upis* est fonction du nombre d'hôtes disponibles. C'est ainsi (tabl. 7) qu'en présence d'un excès d'hôtes (40 L₅ de *T. urticae* par jour), la fécondité moyenne est de 184 œufs pour une longévité de 33 jours. Cette fécondité baisse sensiblement pour 30 L₅ (longévité de 27 jours) et reste sensiblement constante même s'il y a pénurie d'hôtes (cas de 10 larves de *T. urticae* par jour). Il y aurait donc une action stimulatrice du nombre d'hôtes disponibles sur la fécondité, comme l'avait remarqué LABEYRIE sur *Diadromus* sp., dont les modalités nécessiteraient d'être précisées.

TABLEAU 7

Fécondité de T. upis en fonction de la densité numérique de l'hôte

	Nombre d'hôtes disponibles quotidiennement		
	40 L ₅	30 L ₅	10 L ₅
Fécondité	184	133	115

B. — Étude dans la nature et cycle

L'élévation de la température (moyenne comprise entre 13°C et 15°C) lors du mois d'avril conditionne les premières sorties d'adultes de *T. upis*. Les larves de *Trioxa urticae*, alors aux quatrième et cinquième stades, sont en majorité parasitées. La première génération de *T. upis* prend place pendant le mois de mai sur toute la

durée du cinquième stade du Psylle. La vingtaine de jours nécessaires au développement complet du parasite au mois de juin, où la température oscille autour de 21°C, implique l'éclosion des adultes de seconde génération à la fin juin. Une génération complète du parasite se développe aux dépens de l'hôte du 10 juillet au 16 août. Par suite de la raréfaction des larves consécutive au déplacement estival de *T. urticae*, les adultes de *T. upis* parasitent un nombre restreint de larves du Psylle et vivent peu de temps. Seuls les adultes issus d'œufs pondus à la fin de la pullulation estivale des larves de l'hôte éclosent début octobre à l'apparition des deux derniers stades de *T. urticae*. La température moyenne est alors comprise entre 15° et 16°C.

Les conditions thermiques automnales limitant la ponte de l'entomophage, les larves récoltées dans la nature présentent toutes le cocon de nymphose. L'hivernation du parasite se fait à l'état de nymphe.

Dans la nature, en 1967, le pourcentage du parasitisme atteignait 60 à 65 p. 100 lors des deux premières générations de *T. urticae* pour baisser lors des migrations estivales du Psylle. Il s'est maintenu ensuite à 25 p. 100 lors de la troisième génération qui hivernait.

CONCLUSIONS

T. urticae est une espèce polyvoltine, remarquablement adaptée, tant pour la reproduction que pour le développement, à une gamme des températures extrêmement étendue. Le contrôle naturel des pullulations du Psylle s'explique par la forte mortalité larvaire liée à la disparition saisonnière de la plante-hôte et à l'action d'un parasite spécifique.

T. upis, ectoparasite, constitue un matériel de choix pour approfondir les interactions hôte-parasite qui seraient susceptibles de faire l'objet de recherches ultérieures.

Reçu pour publication en octobre 1968.

SUMMARY

RESEARCH ON THE PARASITIC COMPLEX *TRIOZA URTICAE* L. (HOMOPT., *PSYLLIDAE*),
TETRASTICHUS UPIS WALK. (HYMENOPT. *TETRASTICHIDAE*)

Trioza urticae is a polyvoltine species which, in the Toulouse area, breeds three generations whose larvae hibernate in the last-stage form. ZANGHERI (1954) mentions, in this same species an equal number of generations which hibernate in the imaginal stage. When temperatures are too high, the *T. urticae* adults move to damper areas and return to the original biotope, reverting to normal conditions.

T. urticae remains quiescent during the winter as last-stage larvae.

Duration of the embryonic and larval stages is in direct ratio to the photoperiod and in inverse ratio to the temperature. Below 8.5°C, growth of the larval stages corresponds with the thermal-constant law and requires, dependently on the photoperiod, 608 to 773 degrees/days with a theoretical 4.6°C thermal threshold.

Usually the photoperiod has no effect on longevity nor on fecundity at extrem temperatures. Longevity is in inverse ratio to the temperature, and likewise for fecundity at temperature equal to or higher than 15°C.

Tetrastichus upis, in South-western France, breeds 5 yearly generations which hibernate in the nymphal stage. In the laboratory, the pest develops so rapidly (18 days) that 18 generations may be obtained yearly.

The mean fecundity is low when compared with other entomophagous species but, nevertheless, remains steady as, in natural conditions no superparasitism has ever been observed. The stimulating effect of the host is such that, from a daily threshold some of 30 larvae, the fecundity of the parasite increases some about 30 p. 100.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BONNEMAISON L., 1946. Action des températures constantes ou variables sur le développement d'un Hémiptère *Eurydema ornatum* L. (PENT.). *Ann. Épiphyties*, **12**, 115-143.
- BONNEMAISON L., MISSONNIER J., 1956. Le Psylle du Poirier (*Psylla pyri* L.). Morphologie et biologie. Méthodes de Lutte. *Ann. Épiphyties*, **7**, 263-331.
- DE DALLA TORRE C. G., 1897. *Catalogus hymenopterorum. Chalcididae*, **5**, 24.
- DOBREANU E., MANOLACHE C., 1952. Fauna Republicii Populare Romine. *Homoptera, Psylloidea*, **8**, Fasc. 3.
- DOMENICHINI G., 1964-1965. I. Tetrastichini (Hymenoptera, Eulophidae) paleartici ed i loro ospiti. *Boll. Zool. Agr. e di Bachicoltura*, **6**, 61-204.
- LABEYRIE V., 1960. Contribution à l'étude de la dynamique des populations d'insectes : Influence stimulatrice de l'hôte, *Acrolepia assectella* Z., sur la multiplication d'un Hyménoptère *Ichneumonidae*, *Diadromus* sp. *Entomophaga*, *Mémoire H.-S.* n° 1, 193 pp.
- NIKOL'SKAYA M. N., 1952. Faune des Chalcidiens de l'U. R. S. S. *Chalcidoidea. Acad. Sci. U. R. S. S.* Ed. Moscou et Leningrad, **44**, 574 pp.
- ONILLON J. C., 1967. Contribution à l'étude d'une association parasitaire : *Trioza urticae* L. (Homoptera, Psyllidae) et son parasite *Tetrastichus upis* WALK. (Hymenopt., Tetrastichidae). Thèse Fac. Sci. Toulouse 78 pp.
- SCHAEFFER H. A., 1949. Beitrage zur Kenntnis der Psylliden der Schweiz. *Bull. Soc. Entomol. Suisse*, **22**, 1-95.
- ZANGHERI S., 1954. Nota sulla *Trioza urticae* L. (Homopt., Psyllidae) *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, **20**, 257-273.

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

LA MEMBRANE DES PROTOZOAIRES,
ORGANITE DE L'EXCITABILITÉ ET DE L'INGESTION

M. PUSSARD

*Laboratoire de Zoologie,
Institut national agronomique, 16, rue Claude-Bernard, 75 - Paris (5^e)
Institut national de la Recherche agronomique*

PLAN

SOMMAIRE.

INTRODUCTION.

I. — STRUCTURES ET COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE.

A. — PLASMALEMME DES AMIBES.

1. *Membrane plasmatique.*
2. *Couche muqueuse.*
3. *Néoformation du plasmalemm.*

B. — LA SURFACE CELLULAIRE DES AUTRES PROTOZOAIRES.

C. — CONCLUSIONS

II. — PERMÉABILITÉ ET PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES DE LA MEMBRANE.

A. — PERMÉABILITÉ IONIQUE.

1. *Échanges de cations alcalins.*
2. *Propriétés électriques de la membrane : potentiel, résistance et rectification.*
3. *Fixation des cations bivalents par la membrane cellulaire.*
4. *Perméabilité de la membrane aux anions.*

B. — PERMÉABILITÉ DE LA MEMBRANE AUX MOLÉCULES.

III. — L'EXCITATION EXPÉRIMENTALE DES PROTOZOAIRES.

A. — RÉPONSES AUX DIVERS MODES DE STIMULATION.

1. *Stimulus mécanique.*
2. *Irradiation ultraviolette.*
3. *Stimulus chimique.*
4. *Stimulus électrique.*

B. — CARACTÈRES GÉNÉRAUX DE L'EXCITABILITÉ DES PROTOZOAIRES.

C. — MÉCANISME DE L'EXCITATION.

D. — RÔLE DE LA COUCHE MUQUEUSE. PHÉNOMÈNE DE LA DESQUAMATION.

SOMMAIRE

D'après des travaux réalisés sur les Ciliés et les Amibes, l'auteur s'efforce de mettre en évidence les propriétés de la surface cellulaire qui interviennent dans le comportement alimentaire des Protozoaires.

La membrane plasmatique (lipides + protéines) paraît être le siège de l'excitabilité : les stimuli émanant de l'environnement provoquent une transformation structurale qui déclenche la réaction. Celle-ci se traduit soit par une déformation accusée de la surface cellulaire et par une déviation des courants cytoplasmiques, soit par une modification du battement ciliaire. Les ions Ca^{++} jouent un rôle capital dans ces phénomènes.

La couche muqueuse (mucopolysaccharides + protéines) recouvre extérieurement la membrane plasmatique qu'elle protège contre les variations de la composition chimique du milieu. Elle se comporte en échangeur de cations. La neutralisation de ses charges anioniques superficielles par des macromolécules basiques est à l'origine des réactions pinocytaires et chimiotactiques.

INTRODUCTION

Longtemps négligée, l'étude de la membrane cellulaire a été stimulée au cours des dernières décennies par le développement de techniques telles que micromanipulation, histochimie, microscopie électronique et immunofluorescence. Actuellement les progrès réalisés sont assez substantiels pour permettre de mieux comprendre le rôle joué par cet organe dans les rapports de la cellule avec son environnement.

Chez les Protozoaires libres, les fonctions de la membrane sont multiples : elle protège le cytoplasme contre les agressions physico-chimiques d'un milieu éminemment variable et elle sécrète les formations superficielles des stades de repos (kystes, prékystes) ; elle joue un rôle prépondérant dans la locomotion (mouvement amœboïde, battements ciliaires et flagellaires), dans la réception des stimuli (galvanotactisme, chimiotactisme) et dans l'absorption des substances nutritives.

Chez les Protozoaires phagotrophes ⁽¹⁾ en particulier, l'ingestion des aliments figurés dépend de l'état d'excitation de la membrane dont la perméabilité contrôle ensuite le passage des produits de la digestion vacuolaire vers le cytoplasme. La manifestation la plus étonnante du comportement alimentaire de ces espèces est le choix des proies : ce phénomène demeure mystérieux mais indéniablement son explication réside dans la nature de l'excitation créée au niveau de la surface cellulaire par l'approche de la proie.

Nous étudierons successivement la structure, la perméabilité et les propriétés électriques de la membrane des Protozoaires. Les notions ainsi acquises nous permettront d'exposer le problème de l'excitabilité cellulaire.

I. — STRUCTURE ET COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE CELLULAIRE

Typiquement la membrane cellulaire se compose de deux couches distinctes :

a) la membrane plasmatique (*unit membrane* selon ROBERTSON, 1960) qui limite le protoplasme dont elle fait partie intégrante. Elle est rigoureusement indispensable à la vie cellulaire. Elle recouvre directement une mince couche de hyaloplasme gélifié, parfois hautement différencié, le cortex ou ectoplasma.

b) la couche muqueuse (couche d'adsorption ou microenvironnement, *extraneous coat* des auteurs anglo-saxons) qui revêt extérieurement la membrane plasmatique ; elle fait transition entre la cellule et le milieu extérieur. Malgré sa grande importance physiologique, elle n'est pas indispensable à la survie de la cellule, au moins à court terme.

L'expression « surface cellulaire » désigne habituellement l'ensemble constitué par le cortex, la membrane plasmatique, la couche muqueuse et certains exsudats cellulaires.

Nous étudierons en détail la membrane cellulaire des Amibes, ou plasmalemmes, que nous comparerons brièvement aux formations superficielles des autres Protozoaires.

A. — PLASMALEMME DES AMIBES

D'une grande simplicité structurale, le plasmalemmes a été très étudié chez deux grandes espèces aquatiques : *Amoeba proteus* PALLAS (= *Chaos diffluens* MULLER) et *Chaos chaos* LINNÉ (= *Pelomyxa carolinensis* WILSON).

La composition chimique du plasmalemmes a été étudiée chez *A. proteus* par O'NEILL (1964) qui indique les proportions suivantes : 35 p. 100 de lipides, 26 p. 100 de protéines et 16 p. 100 de glucides, soit un total de 77 p. 100 de substances identifiées.

Le plasmalemmes comprend les deux éléments classiques : membrane plasmatique et couche muqueuse. Il recouvre un cortex homogène où apparaissent transitoirement, soit des microfibrilles considérées comme des éléments contractiles (WOHLFARTH-BOTTERMANN, 1964 ; NACHMIAS, 1964), soit localement des ultrastructures plus complexes (CHRISTIANSEN et MARSHALL, 1965).

1. La membrane plasmatique

Extrêmement caractéristique, l'ultrastructure de la membrane plasmatique est sensiblement identique chez toutes les cellules. Après fixation par l'acide osmique ou par le permanganate de potassium, l'examen en microscopie électronique révèle l'existence de trois feuillets superposés : un

(1) La phagotrophie est l'ingestion de particules (phagocytose) ou de substances solubles (pinocytose) accomplie par déformation locale de la surface cellulaire et vésiculation de la membrane (formation d'une vacuole digestive).

feuillet transparent ($40 \text{ \AA}$) compris entre deux feuillets opaques aux électrons ($20 \text{ \AA}$ d'épaisseur chacun). BRANDT et PAPPAS (1960) ont signalé une telle structure symétrique chez *C. chaos* (fig. 1). D'après SZUBINSKA (1964) le plasmalemmes d'*A. proteus* serait dissymétrique, le feuillet dense externe étant plus épais que l'interne. Une dissymétrie comparable a été décrite dans les microvillosités intestinales du Rat et dans la paroi des vacuoles digestives de certains Ciliés Pérित्रiches (FAVARD et CARASSO, 1964) : elle a été interprétée comme reflétant une spécialisation dans l'absorption de substances dissoutes.

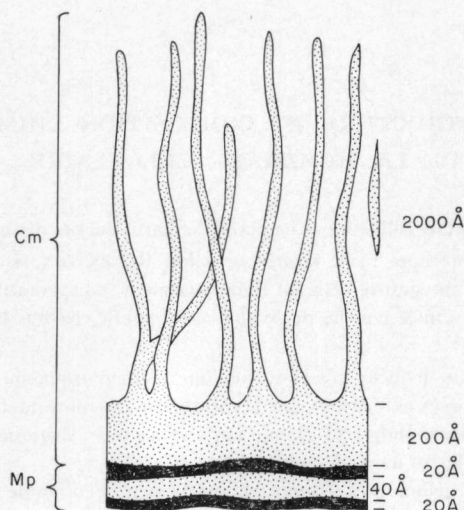


FIG. 1. — Coupe schématique du plasmalemmes de *Chaos chaos* d'après BRANDT et PAPAS (1962).

Mp : membrane plasmatique
Cm : couche muqueuse
(fixation osmique, microscopie électronique).

Selon l'hypothèse de DANIELLI et DAVSON (1935), l'élément essentiel de la membrane plasmatique est une double assise de molécules lipidiques orientées perpendiculairement à la surface de la cellule (feuillet transparent). Les faces de cette assise contiendraient les groupes polaires des molécules et seraient recouvertes par des micelles protéiques constituant les enveloppes (feuillets opaques). La figure 2 illustre cette conception classique. Phospholipides (lécithines, céphalines) et stérols sont les constituants lipidiques de la membrane plasmatique. L'élément fondamental est la molécule de phospholipide. Typiquement, elle résulte de l'estérification de l'acide phosphatidique par un amino-alcool (sérine, choline, aminoéthanol). L'acide phosphatidique correspond lui-même à un triglycéride dont un acide gras serait remplacé par un acide phosphorique ; il jouerait un rôle capital dans le transport actif de cations dans la membrane cellulaire des êtres supérieurs (HOKIN et HOKIN, 1961). La molécule de phospholipide possède au moins une fonction acide libre (groupe hydrophile ionisable) qui lui permet de se comporter en échangeur de cations (BLAUSTEIN, 1967). THOMPSON (1967) a constaté que les structures membraneuses de *Tetrahymena pyriformis* (Cilié Hyménostome) contenaient des phospholipides du type lécithine et céphaline, possédant quelques particularités moléculaires.

Les stérols sont supposés stabiliser la disposition moléculaire des phospholipides. Entre le groupe aminé de ces derniers et la fonction alcool du stérol existerait une interaction polaire (FINEAN, 1953). Fait remarquable du point de vue phylogénétique, les stérols identifiés chez *Acanthamoeba* sont identiques à ceux de certains Flagellés chrysomonadines (HALEVY et al., 1964).

Les enveloppes protéiques contribueraient à maintenir la stabilité de l'assise lipidique médiane. Elles contiennent des nucléotides (A. T. P.) ⁽¹⁾ et des enzymes (A. T. P.-ase en particulier) au moins chez les Métazoaires (ASHWORTH et *al.*, 1963). BIRNS (1960) reprenant les travaux de SELLS et SIX (1959) aurait décelé des activités phosphatases et A. T. P.-asiques au niveau du plasmalemme de *C. chaos* ; sur la même Amibe, CHAPMAN-ANDRESEN et LAGUNOFF (1966) n'ont pu vérifier ces résultats.

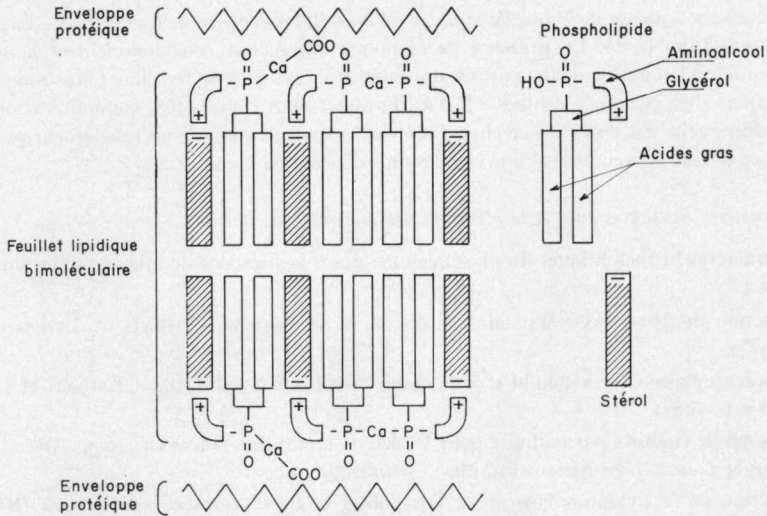


FIG. 2. — Structure moléculaire de la membrane plasmatique suivant la conception classique. Remarquer les deux types de ponts calciques intermoléculaires. Reproduit d'après LIEBERMAN (1967).

La conception classique de DAVSON-DANIELLI, reprise par ROBERTSON, tend actuellement à être abandonnée : GREEN et PERDUE (1966) considèrent la membrane comme un système vésiculaire ou tubulaire dont la paroi est constituée par la juxtaposition d'unités macromoléculaires lipoprotéiques toutes identiques.

KAVANAU (1965) admet que la structure de la membrane plasmatique est susceptible de varier entre deux états extrêmes. Ces transformations seraient liées à l'évolution de l'équilibre entre cations alcalins et alcalino-terreux fixés sur les sites anioniques de la membrane plasmatique. Cet auteur propose une théorie qui associe l'état structural à la perméabilité : l'assise lipidique serait percée de pores qui pourraient être larges (structure ouverte) ou étroits (structure fermée) suivant que les micelles lipidiques s'allongent perpendiculairement (assise lipidique épaisse) ou parallèlement (assise lipidique mince) à la surface de la membrane.

En terminant cette étude de la membrane plasmatique, nous devons rappeler que tous les éléments membranaires de la cellule possèdent la même ultrastructure (d'où l'hypothèse d'une continuité anatomique entre elles) : parois du réticulum endoplasmique, de la vacuole pulsatile et des mitochondries, membrane nucléaire et plasmatique.

2. La couche muqueuse

Si la membrane plasmatique a été très peu étudiée chez les Protozoaires, la couche muqueuse a par contre fait l'objet de nombreux travaux chez les Amibes. De consistance plus ou moins fluide elle est constituée par des protéines et des polysaccharides aminés (mucopolysaccharides).

(1) A. T. P. : acide adényltri-phosphorique.

a) *Ultrastructure.*

Observée en microscopie électronique la couche muqueuse de *C. chaos* (fig. 1) apparaît sous forme d'une zone basale amorphe, homogène, d'une épaisseur de 200 Å hérissée de longs filaments atteignant 2 000 Å (PAPPAS, 1959 ; BRANDT et PAPPAS, 1960). Chez *A. proteus* la couche muqueuse a le même aspect mais SZUBINSKA (1964) considère que la zone basale fait partie du feuillet opaque externe de la membrane plasmétique sous-jacente d'où l'ultrastructure dissymétrique de cette dernière. La couche muqueuse de *Vannella simplex* (Mayorellidae) ressemble à celle de *C. chaos* (WOHLFARTH-BOTTERMANN, 1960). La présence de filaments qui accroît considérablement la surface de contact avec le milieu ambiant, est parfois attribuée à un artefact de fixation. Cette zone fibrillaire paraît manquer chez certaines Amibes : FAURÉ-FRÉMIET et ANDRÉ (1968, communication personnelle) ont récemment mis en évidence chez *Thecamoeba terricola* GREEFF un revêtement polysaccharidique dense de 200 Å recouvert d'une couche plus délicate de 2 000 Å.

b) *Caractères histochimiques et localisation des mucopolysaccharides.*

Les caractères histochimiques du plasmalemmes dus à la présence de mucopolysaccharides sont les suivants :

- réaction de HOTCHKISS-MAC MANUS (ou P. A. S.) positive (BAIRATI et LEHMANN, 1953 ; PAPPAS, 1954),
- metachromasie vis-à-vis du bleu de toluidine (SPEK et GILLISEN, 1943 ; BAIRATI et LEHMANN, 1953 ; PUSSARD, 1965),
- basophilie traduite par l'affinité pour le bleu de méthylène (PENARD, 1905 ; GROSSE-ALLERMAN, 1909) et pour le bleu Alcian (CHAPMAN-ANDRESEN, 1962),
- l'action de la hyaluronidase qui a fait l'objet d'observations contradictoires (BAIRATI et LEHMANN, 1953 ; O'NEILL, 1964).

Il est admis que ces réactions, caractéristiques de certains groupes chimiques (glycol, ester sulfurique et carboxyle), révèlent la présence de mucopolysaccharides acides. L'examen de coupes ultramincées réalisées après traitement d'*A. proteus* par le bleu Alcian a permis de démontrer la localisation de ces glucides dans les filaments de la couche muqueuse (HAYWARD, 1963). NACHMIAS (1965) a confirmé ce résultat en colorant le plasmalemmes par des cations uranyles. La nature glucidique de la zone basale de la couche muqueuse n'a jamais été prouvée. D'après MARSHALL et NACHMIAS (1965) les mucopolysaccharides représenteraient 4 p. 100 du poids sec d'une Amibe. Ils sont plus ou moins étroitement associés à des protéines.

c) *Propriétés des mucopolysaccharides acides.*

Au cours de ces dernières années, ces glucides ont accaparé l'attention des chercheurs. Cette faveur vient de leurs remarquables propriétés physico-chimiques liées au caractère polyanionique de la molécule.

Les mucopolysaccharides acides sont constitués par des unités hexosamine + acide uronique. L'analyse chimique du plasmalemmes d'*A. proteus* n'a permis d'isoler que 3 oses : le plus abondant est voisin du mannose tandis que glucose et galactose sont présents en moindre quantité (O'NEILL, 1964). Un nombre d'oses aussi réduit suggère que la couche muqueuse de cette Amibe ne contient qu'un seul type de molécule mucopolysaccharidique.

La forme de la chaîne moléculaire dépend de l'état d'ionisation des groupes acides et de l'intensité de la répulsion existant entre ces sites électronégatifs (KATCHALSKY, 1964). A pH alcalin et en présence d'une faible concentration ionique (inférieure à 0,1 ion-gramme) l'extension est maximum. Lorsque ces conditions ne sont pas réunies, elle forme un peloton plus ou moins serré. Sous cette dernière forme, la molécule de hyaluronate emprisonne un grand nombre de molécules d'eau et ce surtout dans les milieux riches en électrolytes où la molécule est très repliée. Cette rétention d'eau

est accrue en présence d'anions HCO_3^- (KULONEN, 1953). Les mucopolysaccharides superficiels limiteraient donc les pertes d'eau subies par les Amibes. Leur action renforcerait considérablement celle qui est attribuée à l'assise lipidique de la membrane plasmatique.

Dans des solutions où leur molécule est déployée, les mucopolysaccharides ont une forte viscosité (ROGERS, 1961). Ils sont capables de lubrifier le contact entre deux surfaces soumises à une forte attraction. De ce fait ils pourraient jouer un rôle important dans la locomotion amœboïde.

En tant que polyacides, les mucopolysaccharides du plasmalemm se comportent en échangeurs de cations. Les groupes acides sont soit carboxyles uniquement (acide hyaluronique), soit carboxyles et esters sulfuriques (héparine). La macromolécule a donc une charge globale électro-négative d'autant plus grande que les fonctions aminées des chaînons hexosaminés sont bloqués par acétylation. L'affinité des mucopolysaccharides acides pour les cations est proportionnelle à la densité de répartition des sites anioniques le long de la molécule. Leurs solutions fixent une proportion variable de cations qui perdent leur activité osmotique. Ainsi l'acide alginique (polyacide extrait de certaines algues brunes) immobilise 60 à 65 p. 100 des cations alcalins et 99 p. 100 des cations Ca^{++} (KATCHALSKY, 1964). Cette affinité est à la base du pouvoir anticoagulant de l'héparine. Grâce à ses mucopolysaccharides, la couche muqueuse fixe les ions Ca^{++} dont elle constitue, avec le chondriome et le réticulum endoplasmique, la principale réserve cellulaire. La fixation de cations neutralise plus ou moins fortement les sites électro-négatifs et modifie la forme de la molécule. En présence de concentrations élevées en électrolytes, les mucopolysaccharides acides se comportent en polymères non chargés. Les cations bivalents créent des ponts intramoléculaires stabilisant le reploiement et des ponts intermoléculaires provoquant la précipitation (formation de gels). Les cations alcalins sont facilement déplacés par les cations bivalents et par les molécules basiques qui forment avec les mucopolysaccharides acides des complexes très stables.

Dans un champ électrique la molécule de mucopolysaccharide acide forme un dipôle : le centre des charges positives (cations de la couche périmoléculaire de GOUY-CHAPMAN) ne coïncide plus avec celui des charges négatives portées par la chaîne moléculaire (KATCHALSKY, 1964). Une telle polarisation interviendrait à la surface de la cellule où règne un champ électrique important. Les mucopolysaccharides superficiels pourraient alors s'orienter et se déplacer parallèlement à la membrane plasmatique.

Les Protozoaires, comme toutes les cellules, possèdent un potentiel électrocinétique négatif (potentiel zêta) : dans un bac à électrophorèse, ils migrent passivement vers l'anode. Le potentiel zêta est la valeur du potentiel électrostatique régnant à la frontière de la couche d'hydratation d'une interface où se pressent de nombreux sites anioniques (théorie de la double couche électrique). Le potentiel de surface créé par l'accumulation de charges négatives s'exerce jusqu'à plusieurs milliers d'angströms dans le milieu extérieur. Ses variations auraient des répercussions sur l'état structural de la membrane plasmatique (GINGELL, 1967). Ce potentiel dépend de la densité des charges, donc en particulier de la force ionique et du pH de la solution ambiante. Le point isoélectrique caractérisé par la suppression de la mobilité électrophorétique, est obtenu chez *P. caudatum* pour un pH de 5,25 (GREBECKI, 1963 a) ; cette valeur relativement élevée, permet de supposer que des sites carboxyles sont en cause ; ils appartiennent non seulement à des mucopolysaccharides acides mais aussi à des protéines. BAND et IRVINE (1965) ont montré que chez *Acanthamoeba* la densité des charges superficielles (évaluée en fonction de la vitesse du déplacement électrophorétique) augmentait significativement un peu avant l'apparition du premier indice morphologique de l'enkystement, pour atteindre un maximum chez le kyste mûr normal. Les kystes sans membrane, formés en absence d'ions Ca^{++} et Mg^{++} conservent le potentiel électrocinétique du trophozoïte. L'enkystement s'accompagne donc d'une modification très nette de la couche muqueuse.

La répartition des charges à la surface du corps cellulaire n'est pas uniforme. GREBECKI (1963 b) admet que leur densité est maximum au niveau du cytostome de *Paramecium* et minimum à l'extrémité caudale. Chez *Vahlkampfia gruberi*, FORRESTER et coll. (1967) ont constaté que les charges étaient plus nombreuses à l'extrémité d'un pseudopode en formation. Une observation identique a été

réalisée chez les Myxamibes des Mycétozoaires et des Acrasiées. De cette répartition inégale résulte vraisemblablement un gradient de potentiel de surface.

Pour terminer cette revue des propriétés des mucopolysaccharides de la couche muqueuse, nous devons signaler leur fort pouvoir antigénique, semblable à celui des polysaccharides des capsules bactériennes.

d) *Les mucopolysaccharides chez les Rhizopodes et les Acrasiées.*

La présence des mucopolysaccharides superficiels a été signalée chez de nombreux Rhizopodes : outre les espèces mentionnées précédemment nous pouvons citer :

Thecamoeba striata (PAPPAS, 1954)
Thecamoeba verrucosa (PUSSARD, 1965)
Amoeba guttula (PAPPAS, 1954)
Acanthamoeba (BAND, 1963 ; PUSSARD, 1966)
Gocevia fonbrunei (PUSSARD, 1965)
Leptomyxa reticulata (PUSSARD, non publié)

WRIGHT (1964) a repéré la présence d'un matériel PAS positif sans doute de nature mucopolysaccharidique, à la surface du plasmode d'une Acrasiée.

Ces résultats ont été acquis à l'aide de tests histochimiques contrôlés en microscopie photonique. Récemment l'étude de la structure fine de *Trichamoeba villosa* (BHOWMICK, 1967) et de *Pelomyxa palustris* (DANIELS et BREYER, 1967) n'a révélé aucun matériel muqueux superficiel. Il est possible que ce dernier disparaisse pendant la fixation et l'inclusion : en effet sur coupes ultrafines, la membrane d'*Acanthamoeba* paraît dépourvue de couche muqueuse (PAPPAS, 1959 ; VICKERMAN, 1962) alors qu'il est facile de provoquer chez cette Amibe l'abandon d'un matériel superficiel hyalin (PUSSARD, 1966).

Par sa nature gluante, la couche muqueuse est sans doute impliquée dans les phénomènes préphagocytaires d'agglutination bactérienne observés chez certaines Amibes (*Acanthamoeba*, *Thecamoeba*). L'accumulation des bactéries engluées en un point précis du corps cellulaire est étonnante : de multiples causes peuvent être invoquées pour l'expliquer (mouvements relatifs de la couche muqueuse, inertie des bactéries engluées, courants animant la pellicule d'eau au contact de la surface cellulaire, champ électrique superficiel de l'Amibe).

3. Néoformation du plasmalemm

GOLDACRE et LORCH (1950) avaient admis un renouvellement complet du plasmalemm chaque fois que l'Amibe franchissait une distance égale à sa propre longueur. Cette hypothèse n'a jamais pu être vérifiée. Actuellement il est admis que la principale cause du prélèvement de membrane soit non pas une résorption collopodiale liée à la reptation mais bien la phagotrophie. En effet les vacuoles digestives sont limitées par un fragment de membrane : leur formation correspond donc à une « consommation » très importante de matériel superficiel. Chez *C. chaos* nourrie de Paramécies, CHRISTIANSEN et MARSHALL (1965) estiment que la proportion de surface prélevée par heure oscille entre 40 et 50 p. 100. CHAPMAN-ANDRESEN (1963) d'une part, WOLPERT et O'NEILL (1962) d'autre part sont parvenus à la même estimation de la vie moyenne de la surface cellulaire pendant un cycle pinocytaire chez *A. proteus* : en 4 à 5 heures, 50 p. 100 du plasmalemm sont ingérés. NACHMIAS (1966) considère même que cette vie moyenne peut diminuer jusqu'à 20 minutes chez *C. chaos*. Par ailleurs, même pendant le jeûne, 1 à 10 p. 100 du plasmalemm sont encore renouvelés chaque heure (MARSHALL et NACHMIAS, 1965) sans doute en relation avec la persistance de pinocytose naturelle (pour la définition de ce phénomène, voir WOHLFARTH-BOTTERMANN et STOCKEM, 1966).

Les facteurs de compensation des pertes subies par la surface cellulaire sont les suivants :

- déplissement (CZARSKA et GREBECKI, 1966),
- néoformation,
- réincorporation de la paroi des vacuoles défécitrices.

Il convient de préciser que ce dernier facteur ne compense pas à lui seul les emprunts de membrane imputables à la phagotrophie : pendant la digestion, les phénomènes de fusion vacuolaire provoquent une diminution considérable de la surface des parois initiales ; une partie de ces dernières est seule réincorporée au plasmalemm lors de la défécation.

CHAPMAN-ANDRESEN (1962) considère que le manque de membrane disponible est à l'origine de la période réfractaire post-pinocytaire : d'après cet auteur, la vitesse de néoformation qui représenterait le facteur essentiel de l'expansion de la surface cellulaire, serait capable de limiter la phagotrophie.

JEON et BELL (1964) ont signalé l'apparition de sites mucopolysaccharidiques neufs à l'extrémité d'un pseudopode d'Amibe progressant dans un tube capillaire. CZARSKA et GREBECKI (1966) font remarquer que cette observation correspond simplement à l'érosion de la pellicule superficielle de la couche muqueuse, démasquant ainsi des sites sous-jacents.

CHAPMAN-ANDRESEN (1964) et NACHMIAS (1966) ont montré, grâce à une technique de marquage au bleu Alcian, que le renouvellement du matériel superficiel était diffus : l'intercalation de territoires neufs se produit entre les zones anciennes (intussusception). De toute évidence, ce résultat ne concerne que la surface même de la couche muqueuse. Dans certaines circonstances, cette dernière paraît pouvoir se développer très rapidement en épaisseur : KITCHING (1962) a pu provoquer une abondante « sécrétion » de matériel superficiel en plongeant l'Héliozaire *Actinophrys sol* dans une solution de serumalbumine bovine.

En ce qui concerne la membrane plasmatique elle-même, nous avons peu d'informations. D'après le travail de THOMPSON (1967) il semble que les molécules phospholipidiques évoluent rapidement : l'incorporation d'acide palmitique marqué par le ^{14}C aux membranes de *Tetrahymena pyriformis* est achevée en moins de 5 minutes, ce qui représente environ 3 p. 100 de la durée d'une génération dans les cultures synchronisées utilisées par cet auteur.

La surface cellulaire des Amibes nues est caractérisée par une ultrastructure simple et uniforme ; tout au plus apparaît chez quelques espèces à affinité thécamœbienne (*Gocevia fonbrunei*) une variation d'épaisseur de la couche muqueuse en certaines régions du corps. Sur le plan moléculaire, par contre, existe une évidente hétérogénéité puisque plusieurs propriétés du plasmalemm (densité des charges superficielles, potentiel et résistance) sont réparties en gradient antéro-postérieur ou bucco-caudal.

B. — LA SURFACE CELLULAIRE DES AUTRES PROTOZOAIRES

Comparée au plasmalemm des Amibes, la surface cellulaire de beaucoup de Protozoaires présente une complication ultrastructurale qui respecte une zone plus ou moins exiguë où se produit l'ingestion des aliments.

Certains Flagellés, tels *Bodo saltans* (PITELKA, 1963) ou *Cyathomonas truncata* (MIGNOT, 1965), ont une membrane apparemment dépourvue de couche muqueuse. D'autres, comme les Eugléniens (MIGNOT, 1966), possèdent un matériel superficiel granuleux, P. A. S. positif. La membrane plasmatique de ces Phytoflagellés recouvre un cortex fibrillaire très différencié. Chez *Tetramitus* (*Vahlkampfiidae*), la transformation du stade amibe en stade flagellé comporte outre l'édification de l'appareil flagellaire, le développement à partir des blépharoplastes d'un système de microtubules corticaux, responsables de l'acquisition d'une forme définie (OUTKA et KLUSS, 1967). La surface de la collerette des Choanoflagellés est enduite d'une substance adhésive (ELLIS, 1929) peut-être de nature mucopolysaccharidique.

Le corps des Héliozaïres est recouvert d'une pellicule à travers laquelle saillent les axopodes : cette couche hyaline est chromotrope vis-à-vis du bleu de toluidine et de la thionine (KITCHING, 1960) ce qui permet de supposer la présence de mucopolysaccharides acides.

La surface cellulaire des Ciliés est très complexe. Deux membranes unitaires superposées peuvent y être distinguées : la membrane cuticulaire externe qui est la véritable membrane plasmatique recouvrant également les cils, et la membrane cuticulaire interne qui délimite un système d'alvéoles

(espaces intracuticulaires ou péribasaux) s'étendant sur tout le corps cellulaire sauf dans le fond de la cavité buccale. Un matériel muqueux basophile, la tectine, recouvre la membrane cuticulaire externe de certains Ciliés (ROSENBAUM et WITTNER, 1962 ; CHEISSIN et MOSSEVITCH, 1963) ; il serait sécrété par des organites superficiels, les corps mucifères ou trichocystes muqueux. Un constituant superficiel de la cuticule de *Paramecium aurelia* a été particulièrement bien étudié (JONES, 1965) : c'est la protéine qui est responsable de l'immobilisation du Cilié mis en présence d'un antisérum homologue. Sa molécule (poids moléculaire de 250 000) serait formée par deux chaînes identiques réunies par des ponts disulfures. Fait remarquable, cet antigène d'immobilisation varie en fonction des facteurs de l'environnement. Les crustules exosquelettiques (phosphate et carbonate de calcium + polysaccharide) des Ciliés du genre *Coleps* sont situées dans les espaces intracuticulaires : ils se forment par calcification d'une matrice qui retrouve la membrane cuticulaire interne et dont la structure évoque celle de la couche muqueuse des Amibes. Une nette activité A. T. P.-asique a pu être décelée à ce niveau (FAURE-FRÉMIET, ANDRÉ et GANIER, 1968, communication personnelle).

Chez les Protozoaires phagotrophes possédant soit un cortex différencié (Eugléniens Péranémines et Pétalomonadines), soit une cuticule alvéolaire (Ciliés), un territoire phagocytaire de surface restreinte, souvent situé au fond d'une invagination buccale, conserve une structure simple, comparable à celle du plasmalemm. Ainsi, chez les Ciliés, le fond du cytopharynx est recouvert par une simple membrane plasmatique en contact avec un plasma vacuolaire banal (MILLER et STONE, 1963 ; SCHNEIDER, 1964 ; NILSSON et WILLIAMS, 1966). MAST et BOWEN (1944) avaient signalé la présence d'une substance gélatineuse au fond de la cavité buccale de certains Pérित्रiches. FAVARD et CARASSO (1964) ont mis en évidence à la surface de la membrane cytopharyngienne de Ciliés du même groupe des touffes filamenteuses rappelant singulièrement les filaments de la couche muqueuse des *Chaosidae*. Chez un Pérित्रiche, NOIROT-TIMOTHÉE et LOM (1968, communication personnelle) ont observé un processus de pinocytose dans les sacs parasomax (invagination de la membrane cuticulaire externe en avant de chaque base ciliaire) ; il est intéressant de remarquer que la paroi de ces sacs est recouverte d'un matériel fibrillaire.

Il semble donc que la structure fine de la surface cellulaire apte à ingérer des aliments soit, chez les Ciliés, très semblable à celle du plasmalemm des Amibes nues.

C. — CONCLUSIONS

La membrane plasmatique est l'élément actif de la surface des Protozoaires. Nous possédons en fait peu d'informations à son sujet. Par analogie avec le cas des cellules de Métazoaires, elle serait formée par la juxtaposition d'unités moléculaires lipoprotéiques : la fraction lipidique (phospholipides et stérols) constituerait entre le cytoplasme et le milieu extérieur une barrière à la libre diffusion ; la fraction protéique posséderait diverses activités enzymatiques.

La couche muqueuse, composée de protéines et de mucopolysaccharides acides sécrétés hors de la cellule, pourrait manquer chez certains Protozoaires. Chez les Métazoaires, par contre, son existence serait générale : les mucopolysaccharides sont présents à la surface de l'ovule et des cellules embryonnaires ; ils disparaissent ultérieurement dans certaines lignées ; ils manquent enfin chez les cellules tumorales. La couche muqueuse correspond aux enveloppes paraplasmiques des Végétaux et à la capsule des Bactéries.

Les molécules de la surface cellulaire possèdent un caractère commun : elles portent une ou plusieurs fonctions acides (phosphate, carboxyle, ester sulfurique) qui leur confèrent la propriété d'échanger les cations. La membrane cellulaire est assimilable à une trame moléculaire électro-négative dont les propriétés sont sensibles aux variations du milieu électrolytique baignant chacune de ses faces.

II. — PERMÉABILITÉ ET PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES DE LA MEMBRANE

La membrane contrôle les échanges du cytoplasme avec le milieu ambiant non seulement à la surface même de la cellule mais aussi dans les vacuoles digestives et pulsatiles dont elle constitue la paroi continue et permanente. L'alimentation des Protozoaires, même dans le cas des formes phagotrophes, implique donc toujours le passage plus ou moins sélectif de substances à travers la surface cellulaire.

Facteur fondamental de la nutrition, la perméabilité de la membrane intervient également dans l'excitation cellulaire. De nombreux faits expérimentaux, que nous évoquerons dans le chapitre suivant, permettent en effet de supposer que les systèmes moléculaires qui contrôlent le flux des cations alcalins à travers la membrane sont sensibles, directement ou indirectement, aux stimuli physico-chimiques. Ainsi l'étude des échanges ioniques doit permettre d'apporter une base moléculaire à l'interprétation du comportement des Protozoaires.

A. — PERMÉABILITÉ IONIQUE

La teneur du cytoplasme en un ion donné est relativement constante : un équilibre s'établit entre pertes et gains subis par la cellule à travers sa membrane. La phagotrophie s'accompagne d'un accroissement sensible des gains. Chez le Cilié *Spirostomum* l'ingestion de proies intensifie la pénétration du potassium dont la concentration cytoplasmique augmente (CARTER, 1967) ; de même la pinocytose accroît de 21 p. 100 les gains ioniques de *C. chaos* (CHAPMAN-ANDRESEN et DICK, 1960-1961). Ces observations indiquent que la membrane devient temporairement plus perméable. Dans les paragraphes suivants, nous étudierons essentiellement les échanges ioniques de Protozoaires dépourvus d'activité phagotrophique.

1. Échanges de cations alcalins

Les échanges de cations alcalins ont été très étudiés chez les cellules des êtres supérieurs dont le cytoplasme contient plus de K^+ et moins de Na^+ que le milieu extérieur. L'absorption de K^+ et le rejet de Na^+ sont réalisés chez elles par un mécanisme de transport actif ⁽¹⁾ sensible à l'action de l'ouabaïne, glucoside cardiotonique inhibant l'hydrolyse de l'A. T. P. par l'A. T. P. ase ; les mouvements inverses résulteraient d'une simple diffusion. Chez les Protozoaires, les échanges de cations alcalins sont-ils conformes à ce schéma ?

Tous les Protozoaires accumulent l'ion K^+ dans leur cytoplasme même si la concentration du milieu ambiant est très faible. Le coefficient d'accumulation (rapport de la concentration cytoplasmique à celle du milieu de culture) atteint des valeurs élevées :

- plus de 10 chez *Spirostomum* (CARTER, 1957)
- 30 chez *Acanthamoeba* (KLEIN, 1959)
- plus de 100 chez *Tetrahymena* (DUNHAM et CHILD, 1961)
- 300 chez *A. proteus* (TASAKI et KAMIYA, 1964)

Par contre, vis-à-vis de l'ion Na^+ , le comportement semble dépendre de l'espèce considérée. *Acanthamoeba* (KLEIN, 1961) et *Paramecium* (YAMAGUCHI, 1963) seraient capables d'accumuler ce cation

⁽¹⁾ Le transport actif est un passage sélectif de substance contre le gradient électrochimique ; il implique une succession de combinaisons spécifiques à des molécules de la membrane : ces réactions endothermiques sont couplées avec l'hydrolyse de l'A. T. P.

tandis que *C. chaos* (CHAPMAN-ANDRESEN et DICK, 1960-1961) et *Tetrahymena* (ANDRUS et GIESE, 1963) maintiendraient une concentration cytoplasmique respectivement 10 et 15 fois plus faible que celle du milieu de culture.

a) *Mouvements de K^+ .*

Pour expliquer l'accumulation d'ions K^+ contre le gradient chimique, certains auteurs (RIDDLE, 1962 ; KLEIN, 1961 et 1964 ; ANDRUS et GIESE, 1963 ; JOSEFSSON, 1966) ont invoqué le transport actif. La concentration de la fraction échangeable (fraction perdue par le Protozoaire dans une solution isotonique de saccharose) est chez *Acanthamoeba* 1,4 fois supérieure à celle du milieu de culture (KLEIN, 1961) ; elle diminue très sensiblement en atmosphère d'hélium ou par action du 2,4 dinitro-phénol (D. N. P.) (KLEIN, 1964). Ainsi le blocage de la phosphorylation oxydative (synthèse d'A.T.P.) affecte les gains de K^+ . Chez *Tetrahymena*, l'anaérobiose et divers inhibiteurs métaboliques réduisent aussi la teneur du cytoplasme (ANDRUS et GIESE, 1963). Chez ces deux Protozoaires, la valeur du Q_{10} ⁽¹⁾ relatif aux mouvements de K^+ est voisine de 3 ce qui est compatible avec l'hypothèse d'un transport actif. Celle-ci se heurte cependant à une grave difficulté : chez les Protozoaires l'ouabaine n'altère ni les échanges de cations (ANDRUS et GIESE, 1963 ; KLEIN, 1964) ni le potentiel de membrane (RIDDLE, 1962) ni les réponses motrices des Ciliés (GREBECKI cité par DRYL et GREBECKI, 1966). Toutefois cette inactivité pourrait n'être qu'apparente : il n'est pas exclu en effet que la couche muqueuse empêche le glucoside de parvenir jusqu'à la membrane plasmatique. En fait, il n'a été apporté aucune preuve décisive en faveur de l'hypothèse d'un transport actif de K^+ dont les critères théoriques ne sont d'ailleurs pas réunis : en effet l'accumulation de ce cation n'a pas lieu contre le gradient électrique comme il apparaîtra ultérieurement.

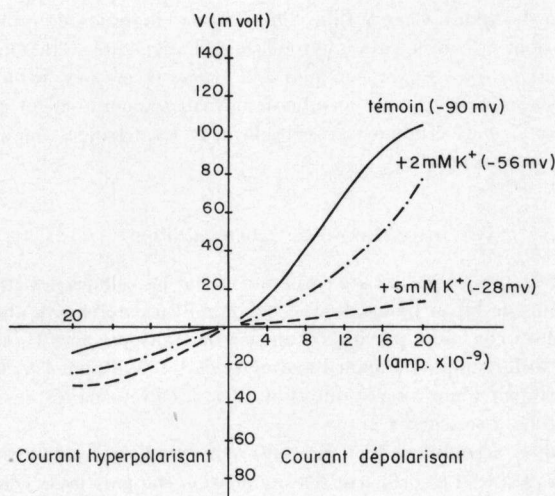


FIG. 3. — Variations de la résistance électrique du plasmalemmes de *Chaos chaos* en fonction de la composition saline du milieu

Les courbes $V(I)$ dont le principe de construction est exposé dans le texte, correspondent à une solution témoin et à deux solutions plus riches en ions K^+ . A l'extrémité droite de chaque courbe sont indiquées la moyenne des potentiels bioélectriques initiaux des Amibes de chaque lot et la variation de la concentration en ClK de la solution par rapport au témoin.

D'après BRUCE et MARSHALL (1965).

D'autres auteurs tels CHAPMAN-ANDRESEN et DICK (1960-1961), CARTER (1957), BRUCE et MARSHALL (1965) attribuent l'accumulation de K^+ à une distribution de DONNAN liée à la présence

⁽¹⁾ Le Q_{10} ou coefficient thermique d'une réaction chimique est le rapport des coefficients de vitesse de cette réaction mesurés à des températures différant de 10°C.

d'anions cytoplasmiques non diffusibles. Ainsi la membrane serait librement perméable à ce cation dont les mouvements se feraient par simple diffusion. Cette hypothèse semble confirmée par l'étude expérimentale du potentiel bioélectrique dont les variations en fonction de la concentration de K^+ dans la solution ambiante sont en accord avec la formule de NERNST.

b) *Mouvements de Na^+ .*

Chez les Protozoaires qui accumulent Na^+ dans leur cytoplasme, les mouvements de ce cation paraissent pouvoir être attribués à la diffusion. Chez *Acanthamoeba*, KLEIN (1961) a montré qu'en réalité une forte proportion (80 p. 100) des ions Na^+ étaient fixés par des constituants cytoplasmiques solubles (ce phénomène existe aussi pour K^+) ; les cations qui demeurent osmotiquement actifs (20 p. 100) correspondent à une concentration égale à celle du milieu d'incubation. L'accumulation constatée chez cette Amibe est donc essentiellement due à un phénomène de fixation qui existe aussi chez *Tetrahymena* (DUNHAM et CHILD, 1961).

Chez d'autres Protozoaires le maintien d'une faible concentration contre le gradient chimique permettait de supposer une certaine imperméabilité de la membrane vis-à-vis de Na^+ . En fait, l'utilisation de sodium radioactif a révélé l'existence d'échanges très rapides entre le cytoplasme et le milieu (CARTER, 1957 ; CHAPMAN-ANDRESEN et DICK, 1960-1961) : la membrane des Protozoaires est considérée actuellement comme librement perméable à Na^+ (CARTER, 1957 ; DUNHAM et CHILD, 1961 ; BRUCE et MARSHALL, 1965). Ce cation diffuserait toutefois plus lentement que K^+ : ce fait pourrait être attribué à la différence existant entre le diamètre des ions hydratés (K^+ : 3,8 Å ; Na^+ : 5,6 Å) d'où un passage plus ou moins aisé à travers des pores. Puisque Na^+ pénètre librement, le maintien d'une faible concentration cytoplasmique requiert l'intervention d'un mécanisme d'expulsion. Cette fonction serait assurée par la vacuole pulsatile (CHAPMAN-ANDRESEN et DICK, 1960-1961 ; DUNHAM et CHILD, 1961 ; BRUCE et MARSHALL, 1965 ; DUNHAM et STONER, 1967). Bien que le liquide rejeté par cet organe soit hypo-osmotique par rapport au cytoplasme (32 milliosmoles contre 100 pour ce dernier d'après SCHMIDT-NIELSEN et SCHRAUGER, 1963), il contient huit fois plus d'ions Na^+ (DUNHAM et STONER, 1967). Cette accumulation dans le liquide vacuolaire résulte d'un transport actif à travers la paroi : DUNHAM et STONER (1967) ont en effet constaté que cette « excrétion », effectuée contre le gradient électrochimique, présentait un niveau de saturation. Ainsi, comme les cellules de Métazoaires, de nombreux Protozoaires posséderaient une « pompe à sodium ». La paroi de la vacuole pulsatile est une membrane intracytoplasmique à fonction spécialisée.

Le rejet actif de Na^+ paraît favoriser l'accumulation cytoplasmique de K^+ . En effet l'inhibition de la vacuole pulsatile par un abaissement de la température ou par une élévation de la pression osmotique du milieu d'incubation provoque une diminution de la concentration de K^+ et une augmentation de la réserve sodique (ANDRUS et GIESE, 1963 ; BRUCE et MATSHALL, 1965). Il existerait donc une compétition entre les deux cations alcalins vis-à-vis des sites de fixation cytoplasmique.

c) *Conclusions.*

K^+ et Na^+ sont les principales espèces ioniques traversant la membrane des Protozoaires. Le rejet actif de Na^+ est une des causes de la discrimination exercée entre les deux cations. Protozoaires et cellules de Métazoaires ont le même schéma d'échanges de Na^+ ; ils diffèrent, par contre, sur le plan des mouvements de K^+ . Le passage de ces cations alcalins à travers la membrane est plus ou moins facile comme si des pores de largeur variable suivant l'état de la membrane freinaient plus ou moins leur mouvement (résistance électrique).

2. *Propriétés électriques de la membrane : (potentiel, résistance et rectification)*

a) *Potentiel bioélectrique.*

En dehors de certaines circonstances bien définies de leur activité vitale, toutes les cellules vivantes possèdent un potentiel bioélectrique négatif par rapport au milieu ambiant. Entre deux

électrodes, l'une capillaire insérée dans le cytoplasme, l'autre établissant le contact avec la solution extérieure, existe une différence de potentiel négative de plusieurs dizaines de millivolts. Relativement stable si la composition saline de la solution ne varie pas, elle est très sensible à toute modification de la concentration des sels de potassium. Ce potentiel cellulaire est donc considéré comme dépendant de la diffusion de K^+ . Nous savons que ce cation est distribué de façon très dissymétrique de part et d'autre de la membrane malgré la perméabilité de cette dernière (équilibre de DONNAN). La formule de NERNST permet de calculer le potentiel théorique correspondant au gradient de concentration de K^+ :

$$E_k = 2,303 \frac{RT}{F} \log \frac{f_e K^+_e}{f_i K^+_i}$$

R : constante des gaz parfaits

T : température absolue

F : constante de Faraday

K^+_e , K^+_i : concentration de K^+ dans la solution et dans le cytoplasme

f_e et f_i : coefficients d'activité de K^+ dans les deux phases (souvent supposés égaux en première approximation).

Cette formule paraît applicable au cas des Protozoaires : le potentiel bioélectrique expérimental est effectivement une fonction linéaire du logarithme de K^+_e , au moins entre certaines limites de concentration (YAMAGUCHI, 1960 ; UEDA, 1961 ; BRUCE et MARSHALL, 1965 ; BATUEVA et LEV, 1967). Parfois cependant les valeurs expérimentales sont nettement inférieures à celles prévues par la formule de NERNST : cela avait incité RIDDLE (1962) à écarter l'hypothèse de la diffusion et à admettre un transport actif de K^+ .

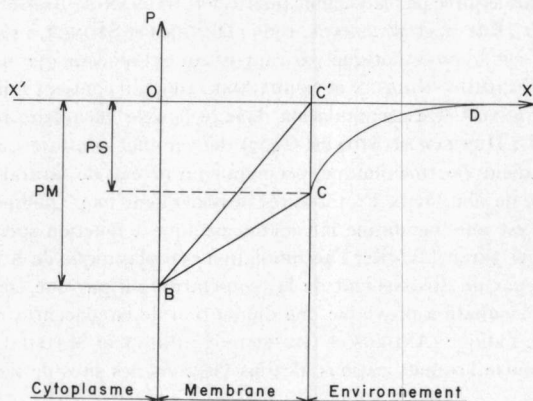


FIG. 4. — Représentation graphique du gradient transversal de potentiel régnant au niveau de la membrane plasmatique

Ce schéma est réalisé en supposant l'absence de couche muqueuse (GINGELL, 1967)

CC' : trace du plan des charges anioniques superficielles

PM : potentiel bioélectrique

PS : potentiel de surface

BC : gradient de potentiel

BC' : gradient de potentiel correspondant à l'annulation du potentiel de surface

Abscisses : distances mesurées suivant un axe xx' normal à la membrane

Ordonnées : valeurs des potentiels.

En fait, il est bien évident que de nombreuses corrections doivent être apportées à la formule de NERNST pour l'adapter aux conditions d'une membrane vivante. Celle-ci est en effet composée de plusieurs assises moléculaires portant des charges électriques négatives : elle ne peut donc être assimilée à la membrane idéalement fine et électriquement neutre que suppose l'application de la formule de NERNST à la diffusion ionique. Enfin, en dehors de K^+ , d'autres ions sont distribués dissymétri-

quement de part et d'autre de la membrane : or, chacun d'eux peut être à l'origine d'une composante du potentiel de diffusion global (équation de HODGKIN et KATZ, 1949). Ce pourrait être le cas de Na^+ : le potentiel bioélectrique d'*A. proteus* est effectivement une fonction linéaire de Na^+ d'après BATUEVA et LEV (1967) ; chez *C. chaos*, par contre, cet ion n'aurait aucune action sur le potentiel (BRUCE et MARSHALL, 1965).

La notion classique de potentiel bioélectrique repose sur la diffusion de cations. Cependant une autre hypothèse a été proposée, celle qui est fondée sur l'intervention de processus d'oxydo-réduction (JAHN, 1962 a).

Le potentiel bioélectrique est souvent appelé potentiel de membrane : il correspond approximativement à la différence de potentiel régnant entre les deux faces de la membrane. Nous avons signalé précédemment que l'accumulation de sites anioniques superficiels créait un potentiel électrostatique de surface qui prolonge hors de la cellule le potentiel bioélectrique. Donc entre les deux faces de la membrane règne un gradient de potentiel (fig. 4) dont l'amplitude est égale à la différence entre le potentiel bioélectrique et le potentiel de surface. Récemment GINGELL (1967) a émis l'hypothèse d'une dépendance de la structure moléculaire de la membrane plasmatique vis-à-vis des variations du gradient transversal de potentiel à son niveau.

La valeur absolue du potentiel bioélectrique est susceptible de varier en fonction de facteurs internes ou externes : si elle augmente, il y a hyperpolarisation, si elle diminue il y a d'abord hypopolarisation puis dépolarisation, le potentiel devenant nul. L'expérience montre que l'état hypopolarisé correspond à une excitation de la cellule ; il ne peut se prolonger sans compromettre l'intégrité cellulaire : un mécanisme de régulation rétablit l'état polarisé normal même si la cause de l'excitation persiste.

b) Résistance de la membrane.

La membrane cellulaire est caractérisée non seulement par un gradient de potentiel mais aussi par une résistance électrique. L'inverse de ce paramètre, la conductance, dépend de la mobilité des cations et constitue de ce fait un excellent témoin de la perméabilité de la membrane. La résistance peut être mesurée par la technique du voltage imposé (*voltage clamp method*). En soumettant une Amibe à une différence de potentiel par l'intermédiaire d'une microélectrode enfoncée dans le cytoplasme, il est possible de modifier son potentiel bioélectrique initial enregistré à l'aide d'une autre microélectrode : soit V la variation correspondante. La stimulation électrique est appliquée pendant un temps très court (0,3 à 0,5 seconde) pour ne pas altérer la composition ionique du cytoplasme. Un courant électrique d'intensité I (de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-9} ampère) peut être mesuré : il correspond à un flux de cations alcalins mobilisés par le champ électrique créé à travers la membrane. En utilisant des impulsions de différents voltages, il est possible de construire par points un graphique $V(I)$ qui n'est pas une droite mais une sigmoïde (fig. 3). La résistance électrique, attribuée uniquement à l'interposition de la membrane, est représentée graphiquement par la pente de la courbe. Elle est donc variable en fonction du potentiel. La valeur qui correspond au potentiel bioélectrique initial peut être déterminée par interpolation (pente à l'origine ; courant nul) : c'est la résistance normale du plasmalemm non sollicité expérimentalement.

Cette technique permet l'étude de la résistance de Protozoaires plongés dans des solutions de composition variable. En utilisant des concentrations salines assez faibles pour ne pas induire de pinocytose, BRUCE et MARSHALL (1965) ont constaté que la résistance du plasmalemm de *C. chaos* varie en raison directe de Ca^{++} et en raison inverse de K_e^+ ; elle est indépendante des concentrations de Na^+ et des anions. Ces mêmes auteurs ont montré que le plasmalemm possédait la propriété de rectification ce qui signifie qu'il se comporte différemment suivant le sens imposé au flux de cations. La rectification apparaît dans la dissymétrie de la courbe $V(I)$ par rapport à l'origine (fig. 3) : la résistance opposée à un flux dépolarisant est plus forte que celle rencontrée par le flux hyperpolarisant de même intensité. La rectification ne se manifeste qu'en solution diluée (concentration de KCl inférieure à 5 mM) ; elle diminue en présence d'ions Na^{++} ; elle est supprimée par addition de sels de

calcium. Une telle dissymétrie de la membrane n'est pas particulière aux Amibes : elle existe chez les Opalines (NAITOH, 1958 ; UEDA, 1961) et chez les cellules de Métazoaires.

c) *Fluctuations des paramètres électriques. Leur signification.*

Les résultats obtenus par BRUCE et MARSHALL démontrent nettement le parallélisme existant entre les variations du potentiel bioélectrique et celles de la résistance de la membrane : l'état hypopolarisé est caractérisé par une faible résistance, l'état hyperpolarisé par une résistance élevée. BRANDT et FREEMAN (1967) admettent qu'une membrane cellulaire de faible résistance, est plus perméable, non seulement aux cations alcalins mais aussi à diverses molécules telles que eau ou glucose. Perméabilité et potentiel électrique de la membrane sont des propriétés étroitement liées.

Les caractéristiques électriques n'ont pas la même valeur en tous points de la surface cellulaire : elles sont en fait réparties en gradients superficiels. NAITOH (1958) a démontré ce fait à propos de la conductivité de la membrane d'*Opalina*. Chez *A. proteus*, l'implantation simultanée de plusieurs microélectrodes sur un même individu en reptation a révélé l'existence d'un gradient de potentiel de membrane dont les pôles sont l'extrémité pseudopodiale (-25 mV) et le colopode (-40 à -70 mV). Cette observation, jointe au fait que la vitesse du courant cytoplasmique est, comme le potentiel, une fonction de K_e^+ , a conduit BINGLEY et THOMPSON (1962) à émettre l'hypothèse d'un contrôle de la locomotion amœboïde par des différences locales de polarisation du plasmalemm : le sol cytoplasmique s'écoulerait des régions hyperpolarisées vers les points hypopolarisés. BINGLEY a apporté des arguments expérimentaux en faveur de cette thèse : nous les exposerons ultérieurement à propos de l'excitabilité cellulaire. Chez les Mycétozoaires, le rebroussement périodique de la cyclose s'accompagne d'une variation rythmique de même période de la différence de potentiel mesurée entre deux sections d'un cordon plasmodial (KISHIMOTO, 1958). JOSEFSSON (1966) conteste les conclusions de BINGLEY et THOMPSON en soulignant notre ignorance des modalités exactes de pénétration des électrodes dans une cellule : les mesures faites en différents points d'une même Amibe pourraient ne pas être comparables. Pourtant, outre les travaux de BINGLEY et collaborateurs, nombreuses sont les observations qui prouvent une relation entre mobilité cellulaire et phénomènes bioélectriques : rebroussement ciliaire et hypopolarisation chez les Ciliés (KINOSITA et al., 1964) ; battements du tentacule et variations du potentiel vacuolaire chez *Noctiluca* (ECKERT et SIBAOKO, 1967).

YAMAGUCHI (1960) et JOSEFSSON (1966) ont enfin observé une nette variation de potentiel bioélectrique pendant la systole de la vacuole pulsatile.

Les fluctuations des propriétés électriques sont probablement en rapport avec les manifestations du comportement des Protozoaires. Elles traduisent des modifications temporaires de la structure moléculaire de la membrane. Enfin les variations topographiques (gradient antéro-postérieur ou bucco-caudal) des paramètres électriques mesurés chez un même individu révèlent un gradient structural de la surface cellulaire qui est un des aspects de la polarité du corps des Protozoaires.

3. *Fixation des cations bivalents par la membrane cellulaire*

Les cations bivalents les plus importants au point de vue physiologique sont Ca^{++} et Mg^{++} . Leur action sur la cellule est multiple : ils contrôlent les réactions libérant de l'énergie (système A. T. P. - A. T. P. ase) ; ils favorisent le métabolisme glucidique (action spécifique sur les enzymes) ; ils modifient la forme et les propriétés des macromolécules (mucopolysaccharides, actomyosine) ; ils se fixent enfin à la membrane cellulaire dont ils contrôlent la perméabilité. Une telle multiplicité d'actions rend particulièrement délicate l'interprétation des résultats expérimentaux.

a) *Fixation superficielle et distribution intracellulaire.*

YAMAGUCHI (1960) a montré que la membrane de *Paramecium* est beaucoup moins perméable aux ions Ca^{++} et Mg^{++} qu'aux cations alcalins. Il en résulte une remarquable stabilité de la teneur globale du cytoplasme (YAMAGUCHI, 1963). NAITOH et YASUMASU (1967) distinguent deux modes de

fixation de Ca^{++} par ce Cilié : l'un relativement lent, correspondrait vraisemblablement à une pénétration dans le cytoplasme (réticulum endoplasmique, chondriome) ; l'autre, beaucoup plus rapide, traduirait une fixation sur des sites moléculaires superficiels. Cette combinaison non spécifique, qui mettrait en compétition Ca^{++} avec les autres cations libres de la solution, serait régie par la loi d'action de masse (système d'échange de cations entre la solution et la surface cellulaire). Nous savons que les mucopolysaccharides acides retiennent beaucoup plus fortement Ca^{++} que les cations monovalents. Chez les Amibes se constitue donc au niveau de la couche muqueuse une importante réserve calcique interposée entre le milieu extérieur et la membrane plasmique. Les éléments moléculaires de cette dernière sont réunis par des ponts calciques qui stabilisent la structure (fig. 2). Dans le cytoplasme, le cortex est la zone la plus riche en ions Ca^{++} (LANSING, 1938).

Outre la surface cellulaire, les systèmes de membrane cytoplasmique (mitochondries, réticulum endoplasmique) accumulent Ca^{++} .

CARASSO et FAVARD (1966) ont mis en évidence du calcium au niveau des cavités du réticulum endoplasmique pédonculaire de certains Ciliés Peritriches : ils considèrent cette ultrastructure comme un système de distribution de la Ca^{++} dans le myonème qui fonctionne à la façon d'un système A. T. P.-actomyosine dépendant de Ca^{++} et de Mg^{++} (TOWNES et BROWN, 1965). Par le réticulum endoplasmique pourrait avoir lieu le transfert d'ions Ca^{++} des réserves cytoplasmiques vers la surface cellulaire ou inversement. Une telle régulation est peut-être à l'origine du réapprovisionnement de la membrane de cellules préalablement traitées par l'E. D. T. A. (*) (WEISS, 1967). Elle pourrait expliquer également l'altération de la locomotion observée chez des Paramécies à la suite d'injection d'agents capables de précipiter les ions Ca^{++} (KAMADA, 1938).

b) Action sur la perméabilité de la membrane. Effet hyperpolarisant.

Chez *C. chaos*, BRUCE et MARSHALL (1965) ont constaté que lorsque la concentration de CaCl_2 passait de 0,25 mM à 2 mM, le potentiel bioélectrique diminuait de — 84 à — 116 mV (hyperpolarisation) tandis que la résistance spécifique augmentait de 24 à 30 kohm/cm² ; simultanément la rectification disparaît. L'addition de 2 mM d'E.D.T.A. a une action opposée très spectaculaire : le potentiel s'élève jusqu'à — 21 mV (hypopolarisation) et la résistance spécifique devient égale à 3,6 kohm/cm² : cette évolution des propriétés bioélectriques doit être attribuée à l'élimination des ions Ca^{++} fixés à la surface de l'Amibe. L'action hyperpolarisante de Ca^{++} a été constatée également chez *Paramecium* (KINOSITA et al., 1964).

Chez *Acanthamoeba*, KLEIN (1959) a montré qu'une augmentation de la concentration de Ca^{++} dans la solution d'incubation diminuait les pertes de cations alcalins en bloquant les sites de la diffusion. Il est intéressant de rappeler que chez cette même Amibe Ca^{++} et Mg^{++} sont nécessaires à la formation d'enveloppes kystiques normales (BAND, 1963) ; or d'après GRIFFITHS et HUGUES (1967) la présence de cations bivalents (essentiellement Mg^{++}) aurait pour effet de réduire les pertes en substances organiques subies par l'Amibe pendant l'enkystement. Il faut enfin signaler qu'un prétraitement par l'E. D. T. A. améliore la fixation d'*A. proteus* (BAIRATI et LEHMANN, 1954).

Sur quel élément de la surface cellulaire agissent les ions Ca^{++} ? BRUCE et MARSHALL (1965) supposaient qu'ils bloquent les sites de la couche muqueuse assurant le passage de K^+ . Dans une publication récente BRANDT et FREEMAN (1967) démontrent que l'ultrastructure de la membrane plasmique dépend de la concentration de Ca^{++} dans la solution saline ambiante. Sur des Amibes (*C. chaos*) traitées avant fixation par 20 mM NaCl + 0,05 mM CaCl_2 , afin d'obtenir une forte réponse pinocytaire et une chute marquée de la résistance du plasmalemm, ces auteurs ont constaté que le feuillet médian de la membrane plasmique était deux fois plus épais que dans le lot témoin incubé en présence de 20 mM NaCl + 0,55 mM CaCl_2 (résistance 50 fois plus grande que celle du lot traité). Ainsi une variation de 0,50 mM de la concentration de Ca^{++} modifie simultanément l'ultrastructure et la résistance du plasmalemm. La publication de BRANDT et FREEMAN démontre l'action des ions Ca^{++} sur la structure moléculaire de la membrane plasmique.

(*) L'éthylène-diamino-tétracétate disodique (désignation commerciale : versène, sequestrène) est un puissant agent chélateur des cations bivalents.

c) *Antagonisme entre cations alcalins et Ca^{++} . Hypothèse de la teneur critique.*

PITTS et MAST (1934) avaient constaté que sels alcalins et sels de calcium exerçaient une action antagoniste sur la locomotion d'*A. proteus*. BRANDT et FREEMAN (1967) ont montré que plus le milieu était riche en ions Ca^{++} , plus forte devait être la dose de NaCl pour déclencher la même réaction pinocytaire chez *C. Chaos* : la résistance minimale du plasmalemma était atteinte pour un rapport $\frac{\text{Na}_e^+}{\text{Ca}_e^{++}}$ voisin de 400. Or, d'après ROJAS (cité par KAVANAU, 1965) K^+ et Ca^{++} sont précisément en équilibre vis-à-vis des sites anioniques des phospholipides lorsque $\frac{\text{K}_e^+}{\text{Ca}_e^{++}} = 100$; pour un rapport supérieur à 100, les ions Ca^{++} fixés sont remplacés par K^+ .

L'étude des réactions motrices des Ciliés ⁽¹⁾ a permis de préciser les modalités de l'antagonisme entre cations alcalins et Ca^{++} . En ce qui concerne les troubles du battement ciliaire, l'opinion qui prévaut actuellement est celle défendue par MAST et NADLER (1926) : une rupture de l'équilibre électro-ionique normal de la membrane serait à l'origine des altérations de l'activité ciliaire. Ce n'est donc pas un « neuromotorium » prolongé par une « innervation » fibrillaire, mais bien la membrane elle-même qui exercerait un contrôle sur le mouvement des cils (GREBECKI, 1965 a ; KUZNICKI, 1966).

JAHN (1962 b) et GREBECKI (1964) ont montré que le comportement locomoteur des Paramécies demeurait inchangé quelles que soient les concentrations absolues de K^+ et de Ca^{++} , pourvu que le rapport de GIBBS-DONNAN $\frac{\text{K}_e^+}{\sqrt{\text{Ca}_e^{++}}}$ demeure constant. Tout dépend en définitive de la proportion de et de Ca^{++} combinés aux sites anioniques de la membrane ; le rapport de GIBBS-DONNAN exprime en outre que chaque ion Ca^{++} est fixé par ses deux valences. JAHN (1962 b) suppose que le rebroussement ciliaire est provoqué par une diminution de Ca^{++} . Cependant FABRE (1947) ainsi que KAMADA et KINOSITA (1940) avaient constaté que l'élimination poussée de ce cation rendait paradoxalement les Paramécies insensibles à une stimulation chimique ou électrique. Lorsqu'il est induit par une variation progressive de la composition cationique du milieu, le rebroussement ciliaire est encadré par une série d'altérations typiques du mouvement normal. En utilisant cette séquence de phénomènes, GREBECKI (1965 b) a confirmé ces résultats et proposé une hypothèse nouvelle, celle d'une teneur critique en ions Ca^{++} , seule capable de provoquer le rebroussement ciliaire : selon que le contenu calcique de la membrane est supérieur ou inférieur à cette valeur critique, une altération de l'activité ciliaire résulte de l'action de cations alcalins ou de celle de cations Ca^{++} ; dans le premier cas, les cations Ca^{++} sont déplacés et nous retrouvons l'hypothèse de JAHN ; dans le second, ils se fixent à la membrane dont ils élèvent la teneur jusqu'à la valeur susceptible de déclencher le rebroussement ciliaire. Ce dernier s'accompagne d'une hypopolarisation qui est l'indice d'une perméabilité accrue de la surface cellulaire. Pour un certain degré de fixation de Ca^{++} , la membrane deviendrait plus perméable (structure ouverte).

L'étude de modèles phospholipidiques confirme cette hypothèse : la vitesse de la diffusion de K^+ passe par un maximum pour une certaine concentration d'ions Ca^{++} , variable suivant le phospholipide utilisé (BANGHAM et PAPAHAJOPOULOS, 1966 ; PAPAHAJOPOULOS et BANGHAM, 1966 ; PAPAHAJOPOULOS et WATKINS, 1967).

Ainsi nous pouvons admettre que la membrane plasmique subit une importante modification structurale lorsqu'une certaine proportion de ses sites anioniques sont occupés par Ca^{++} . Les conséquences de cet état critique pourraient être diverses suivant le groupe de Protozoaires : augmentation de perméabilité et hypopolarisation, rebroussement ciliaire et peut-être aussi expansion de la surface cellulaire. La modification structurale de la membrane plasmique décelée par BRANDT et FREEMAN (1967) peut être attribuée à une hydratation réversible (théorie de TOBIAS, 1962). Or préci-

(1) Une revue bibliographique de cette question a été publiée par DRYL et GREBECKI (1966).

sément nous savons que cations alcalins et cations Ca^{++} ont une action très différente sur la fixation d'eau par les phospholipides (effet PALMER-SCHMIDT).

Parmi les autres cations bivalents, certains (Mg^{++} , Sr^{++}) se comportent comme Ca^{++} , d'autres (Mn^{++} , Ba^{++}) comme les cations alcalins vis-à-vis du rebroussement ciliaire. JAHN (1962 *b*) a proposé une interprétation stéréochimique de ces différences : Ca^{++} , Mg^{++} , Sr^{++} seraient capables de combiner leurs deux valences à deux sites anioniques voisins ; Mn^{++} et Ba^{++} en seraient incapables et ne se fixeraient que par une seule valence, l'autre demeurant libre (changement de signe de la charge superficielle qui deviendrait ainsi positive).

Les ions Ni^{++} ont une action très particulière sur les Ciliés : ils rendent inefficace le mouvement ciliaire, mais sont sans effet sur le potentiel bioélectrique (NAITOH, 1966) ce qui signifie qu'ils n'agissent pas sur la perméabilité de la membrane. D'après GREBECKI et KUZNICKI (cités par DRYL et GREBECKI, 1966) ce cation masquerait les radicaux sulphydryles superficiels.

En résumé, Ca^{++} doit son originalité physiologique à son action particulière sur la structure des phospholipides : la densité de fixation de ce cation détermine l'état structural et la perméabilité de la membrane. Dans les milieux naturels et dans les solutions salines équilibrées utilisées au laboratoire, la concentration de Ca^{++} est suffisante pour que le niveau critique soit dépassé : dans ces conditions, toute addition de ce cation bivalent rend la membrane moins perméable. De fait il a été maintes fois constaté que Ca^{++} protège les Protozoaires contre des substances toxiques. Il est enfin intéressant de mentionner que ce cation rend la surface cellulaire moins déformable (WEISS, 1967) : cette action pourrait expliquer le rôle joué par Ca^{++} dans la phagotrophie.

4. Imperméabilité de la membrane aux anions

Les auteurs sont unanimes à considérer la membrane des Protozoaires comme particulièrement imperméable aux anions. Des variations de la concentration de Cl^- , la substitution d'anions plus volumineux donc incapables de traverser la membrane, ne modifient ni le potentiel bioélectrique, ni la résistance (DUNHAM et CHILD, 1961 ; BRUCE et MARSHALL, 1965 ; JOSEFSSON, 1966). La surface cellulaire formée d'une trame moléculaire électronégative exerce vraisemblablement une forte répulsion vis-à-vis des anions.

Néanmoins le cytoplasme de *C. chaos* contient une concentration de Cl^- supérieure à celle du milieu de culture (BRUCE et MARSHALL, 1965). Le sens du gradient électrochimique pourrait permettre d'attribuer cette accumulation à un transport actif. En réalité les gains seraient réalisés à l'occasion des importantes modifications de la perméabilité de la membrane pendant la phagotrophie.

Certains Protozoaires sont capables d'accumuler des anions sous forme de sels insolubles de calcium (carbonate, phosphate). JONES (1967) a montré que les concrétions d'apatite observées dans le cytoplasme du Cilié *Spirostomum* étaient formées à partir de phosphates puisés dans le milieu de culture.

B. — PERMÉABILITÉ DE LA MEMBRANE AUX MOLÉCULES

La membrane des Protozoaires est beaucoup moins perméable que celle des cellules de Méta-zoaires. LØVTRUP et PIGON (1951), PRESCOTT et ZEUTHEN (1953) ont montré que l'eau passait difficilement à travers le plasmalemme des Amibes. Par contre, la paroi des vacuoles digestives serait 100 fois plus perméable à l'eau que la surface cellulaire (MARSHALL et NACHMIAS, 1965).

Le glucose ne traverse pas la membrane de *Polytoma obtusum* (CHAPMAN et al., 1964) et de *C. chaos* (CHAPMAN-ANDRESEN et HOLTER, 1955). La surface cellulaire de *Tetrahymena* est imperméable aux acides aminés qui passeraient dans le cytoplasme par transport actif (STEPHENS et KERR, 1962). Un tel processus d'absorption suppose que la substance parvient au contact de la membrane plasmique ; il est donc probable qu'il est très réduit chez les Protozoaires possédant une couche muqueuse que nous savons peu perméable aux molécules. COMANDON et DE FONBRUNE (1942) ont montré que l'addition de colchicine au milieu de culture ne troublait nullement le cours des mitoses

d'une Amibe à pellicule, *Thecamoeba sphaeronucleolus*. Par contre, l'injection de cette substance dans le cytoplasme permet d'obtenir le blocage métaphasique classique.

Pendant la phagocytose, les cellules sont particulièrement sensibles aux agents chimiques. JONES et JAHN (1964) ont remarqué que l'immobilisation par le chlorure d'hexaméthonium était obtenu plus rapidement chez des Paramécies disposant de proies que chez des individus soumis au jeûne. SBARRA et collaborateurs (1962) ont de même constaté que les leucocytes, insensibles au malonate (inhibiteur respiratoire) lorsqu'ils étaient au repos, devenaient sensibles dès qu'ils déployaient une activité phagocytaire. Pendant la phagotrophie la perméabilité de la membrane augmente et vraisemblablement de façon peu sélective. Il reste à savoir si cette modification intervient lorsque la membrane est encore en position superficielle avant la vésiculation ou si elle ne se manifeste qu'au niveau de la paroi des vacuoles digestives. Cette dernière paraît être le siège de modifications fonctionnelles considérables : HOSKINS et DANIELLI (1967) ont en effet mis en évidence un double changement de sens du passage de colorants vitaux et d'anticorps entre gastriole et cytoplasme pendant les différentes phases de la digestion chez *A. proteus*.

III. — L'EXCITATION EXPÉRIMENTALE DES PROTOZOAIRES

L'exposé de quelques observations réalisées au cours d'expériences de stimulation chez les Protozoaires permettra de préciser les caractères généraux de l'excitabilité cellulaire et le rôle joué par la membrane dans ce phénomène.

A. — RÉPONSES AUX DIVERS MODES DE STIMULATION

1. *Stimulus mécanique*

BINGLEY (1966 *a* et *b*) a étudié les réactions d'*A. proteus* à une piqûre exercée par une micro-aiguille de verre, soumise ou non à des vibrations. Lorsque le stimulus est appliqué à l'extrémité d'un pseudopode, l'Amibe réagit par une hyperpolarisation locale et par le rebroussement du courant cytoplasmique provoquant la résorption du pseudopode (réaction d'évitement) ; une hypopolarisation simultanée a été enregistrée au niveau du collope.

L'insertion de l'aiguille à la partie postérieure de l'Amibe provoque une hypopolarisation locale, sans modification décelable du potentiel des pseudopodes. Autour du point excité apparaît une zone hyaline ; le courant cytoplasmique dévie vers elle, donc vers le point de potentiel le moins négatif : un ou plusieurs pseudopodes apparaissent à proximité du territoire stimulé. Le volume cellulaire s'accroît sensiblement.

Les expériences de BINGLEY, bien qu'utilisant un stimulus mal défini, démontrent l'hétérogénéité de la surface cellulaire : les différentes régions d'une Amibe réagissent de façon opposée à un même stimulus.

2. *Irradiation ultraviolette*

RINALDI (1959) a montré que l'application de doses croissantes de rayons ultraviolets (longueur d'onde 2 537 Å) provoque une accélération parallèle du rythme de fonctionnement de la vacuole pulsatile d'*A. proteus*. Les plus fortes doses (4 944 et 9 888 ergs/mm²) déterminent la formation de canalicules pinocytaires. L'irradiation de fragments cellulaires anucléés donne les mêmes résultats. RINALDI attribue cette action des ultraviolets à une altération de la perméabilité du plasmalemma. Nous proposerons dans le paragraphe C de ce chapitre une interprétation de cette expérience.

3. *Stimulus chimique*

Dans le chapitre précédent nous avons étudié les réactions des Protozoaires aux variations de la composition cationique de la solution minérale ambiante : leur effet peut être assimilé à une élimination ou à une addition d'ions Ca^{++} à la membrane cellulaire. Nous nous proposons d'examiner maintenant le cas des molécules basiques qui, à l'instar des cations autres que Ca^{++} , modifient la locomotion et déclenchent des phénomènes pinocytaires (ingestion de membrane suivant la théorie de BENNETT). La pinocytose induite a été étudiée en détail par CHAPMAN-ANDRESEN (1962) : les molécules inductrices, de caractère basique, sont adsorbées à la surface du plasmalemme : l'Amibe cesse de se mouvoir et prend une forme en « rosette » (abolition de la polarité cellulaire) ; elle ingère par vésiculation une partie de la membrane avec sa charge de matériel adsorbé. Un nouveau cycle pinocytaire ne peut être entrepris qu'après un certain laps de temps (période réfractaire). Suivant la conception classique, la pinocytose est provoquée par une électroadsorption de cations ou de molécules basiques à la surface du plasmalemme. GREBECKI (1963 *b*) attribue à ce même phénomène l'ingestion de colorants au niveau du cytotome de *Paramecium*.

JOSEFSSON (1966) a montré que l'adsorption des substances inductrices provoquait une hypopolarisation du plasmalemme d'*A. proteus*. BRANDT et FREEMAN (1967) ont étudié chez *C. chaos* l'évolution de la résistance de la membrane pendant un cycle pinocytaire provoqué par addition de NaCl, de lysozyme ou de ribonucléase : lorsque l'Amibe est mise en présence de l'inducteur la résistance diminue brutalement tandis que l'épaisseur de la membrane plasmétique augmente. Immobilisation et activité pinocytaire interviennent pendant que la résistance revient lentement à sa valeur initiale : alors la pinocytose cesse et l'Amibe reprend sa locomotion. Les ions Ca^{++} exercent une action antagoniste : plus leur concentration initiale est élevée, plus la dose de substance inductrice doit être grande pour obtenir une même réponse pinocytaire. L'addition de chlorure de calcium en cours d'expérience interrompt brusquement la pinocytose avec retour quasi instantané à l'état normal (résistance élevée, locomotion active). Ainsi la proportion d'ions Ca^{++} fixés sur la membrane détermine la sensibilité cellulaire à ce stimulus chimique ; l'interruption brutale de la pinocytose provoquée par l'addition de Ca^{++} suppose une action directe de ce cation bivalent sur la structure de la membrane plasmétique. A propos de cette réaction morphologique du plasmalemme aux stimuli chimiques utilisés par BRANDT et FREEMAN, il est intéressant de mentionner que des variations locales d'épaisseur de la membrane cellulaire ont été signalées chez des cellules hépatiques ingérant des particules virales par micropinocytose et chez des cellules intestinales au point de contact avec des Bactéries (PAPADIMITRIOU, 1966).

JEON et BELL (1962, 1965) ont étudié les réactions chimiotactiques d'*A. proteus* placée dans un gradient de concentration d'une substance à molécules basiques (exsudat de fragment d'hydre, extrait papainique) s'échappant hors d'une pipette capillaire. Dans la partie de l'Amibe la plus proche de cette dernière, naît un pseudopode dont le développement est orienté vers la source du gradient de diffusion, en l'occurrence l'orifice de la pipette ; celui-ci est finalement entouré par une cupule sans jamais avoir été touché par la surface de l'Amibe. Ce comportement rappelle singulièrement la phagocytose par circumvallation. Si nous supposons qu'une faible densité d'adsorption sur le plasmalemme peut induire un apex pseudopodial alors qu'une plus forte densité l'inhibe, il devient possible d'expliquer le développement annulaire du pseudopode qui conduit à la formation d'une cupule. JEON et BELL (1964) ont montré que la concentration la plus élevée d'une solution d'extrait papainique dans laquelle les Amibes demeurent en mouvement était de 0,001 p. 100. Au-delà apparaissent immobilisation et pinocytose : les sites superficiels sont alors saturés par les molécules basiques. Ces mêmes auteurs ont mis en évidence une compétition entre protéine basique préparée à partir d'extrait papainique, marquée par la rhodamine, et anticorps de surface fluorescents capables eux aussi d'immobiliser les Amibes ; les sites d'adsorption des molécules intervenant dans le chimiotactisme sont donc précisément les motifs antigéniques de la surface de l'Amibe : ce sont probablement les mucopolysaccharides de la couche muqueuse. GINGLE et collaborateurs (observation non

publiée, citée par KOROHODA et al. 1968) ont constaté que l'application locale de poly-L-lysine à la pointe d'un pseudopode d'*A. proteus* provoquait une contraction de la zone traitée dont l'aspect rappelle alors celui du collopode. Ce résultat suggère que l'inhibition pseudopodiale correspond à une contraction de la surface cellulaire, et que l'apex soit caractérisé par une expansion de la membrane.

En contradiction apparente avec ce qui précède, il a été observé que l'héparine dont la molécule porte de nombreux groupes acides était chimiotactique et hypopolarisante chez *A. proteus* (BELL et JEON, 1962 ; BINGLEY, BELL et JEON, 1962). JEON et BELL (1965) avaient attribué ce résultat paradoxal à une erreur expérimentale (combinaison accidentelle de l'héparine à une protéine basique). On pourrait aussi supposer que l'héparine soit capable d'arracher localement des ions Ca^{++} fixés sur le plasmalemm. Contrairement à ce que cette interprétation permet de prévoir, JEON et BELL (1965) n'ont obtenu aucune réponse chimiotactique avec l'E. D. T. A. Par contre, cet agent chélateur à la concentration 1 mM induit la pinocytose (BRANDT, 1958). Il importe de remarquer que dans toutes ces expériences la teneur initiale en ions Ca^{++} du plasmalemm n'est jamais précisée. L'intérêt des résultats expérimentaux obtenus par JEON et BELL est considérable puisqu'ils apportent une explication à la phagocytose par circumvallation. Ils permettent en outre de supposer que les Protozoaires sont sensibles aux gradients de diffusion émanant de leurs proies (diffusion d'ions ou d'exsudats organiques).

Ainsi en fonction de sa distribution et de sa concentration une même substance (par exemple l'extrait papainique) peut, soit être chimiotactique et déclencher un acte phagocytaire sans interrompre la locomotion (gradient de concentration), soit induire l'immobilisation puis la pinocytose (solution homogène d'une concentration supérieure à un certain seuil). Chimiotactisme, immobilisation et pinocytose seraient des phénomènes provoqués par l'adsorption de molécules à la surface du plasmalemm : il semble donc qu'un mécanisme commun soit en cause. STOCKEM (1966) a étudié l'influence du diamètre des particules adsorbées sur l'arrêt de la locomotion et sur la pinocytose induite : plus les particules sont petites plus elles sont aptes à déclencher l'immobilisation d'une amibe ; seules, les suspensions colloïdales et les solutions vraies induisent la pinocytose. Par ailleurs, JEON et BELL (1965) ont eu la surprise de constater que les globulines, connues pour leur fort caractère inducteur de pinocytose, étaient dépourvues de tout pouvoir chimiotactique. Ce dernier implique donc un caractère moléculaire différent de celui qui déclenche la pinocytose, phénomène exigeant apparemment une induction beaucoup moins spécifique.

4. Stimulus électrique

Nous avons évoqué précédemment certaines conséquences de l'application d'un courant électrique à travers la membrane des Protozoaires. Les réactions cellulaires observées peuvent être également obtenues par une modification appropriée de la composition cationique de la solution ambiante : la stimulation anodique correspond à l'addition d'ions Ca^{++} , la stimulation cathodique à celle d'ions K^+ . Chez *Paramecium*, NAGAI (1960 a et b) a obtenu une contraction ectoplasmique aussi bien par stimulation électrotonique que par application locale de CaCl_2 ; des différences topographiques dans la réponse à l'un de ces stimuli appliqués avec une intensité constante, ont été décelées : la contraction est plus intense à la partie postérieure qu'elle ne l'est à l'avant de la Paramecie. Chez *Opalina*, NAITOH (1958) a montré qu'un tel gradient d'excitabilité électronique correspondait à un gradient de conductivité superficielle.

Les champs électriques orientent à la fois la motilité cytoplasmique et la mobilité des Protozoaires : placée entre deux électrodes, une Amibe rampe vers la cathode (HAHNERT, 1932) ; dans les mêmes circonstances, la cyclose d'une Paramécie évolue en un courant cytoplasmique linéaire dirigé vers cette même électrode (CZARSKA, 1965). Chez les Ciliés, une partie de la ciliature correspondant à une portion du corps dirigée vers la cathode, et d'autant plus étendue que le courant électrique est plus intense, inverse la direction de son battement (phénomène de LUDLOFF, voir JAHN, 1961). Pour expliquer les divers aspects de la réponse motrice des Ciliés à un courant électrique, JAHN (1961, 1966, 1967) fait appel à des altérations de l'équilibre cationique au niveau des membranes en relation avec les différences de mobilité des divers cations.

B. — CARACTÈRES GÉNÉRAUX DE L'EXCITABILITÉ DES PROTOZOAIRES

Une même réponse peut être provoquée par des stimuli de nature très différente : les cations alcalins, certains polycations organiques non capables de traverser la couche muqueuse et les rayons ultraviolets induisent l'ingestion pinocytaire de membrane. Ces stimuli perturbent à des niveaux différents un même mécanisme cellulaire. Certains d'entre eux (polycations organiques, anticorps de surface) agissent à la surface même de la couche muqueuse. La membrane dans son ensemble participe à l'excitabilité cellulaire.

La réponse d'un Protozoaire à une excitation ponctuelle est le plus souvent limitée à la zone environnante dont l'étendue dépend de l'intensité du stimulus (la loi du tout ou rien n'est pas valable). Toutefois une certaine propagation de l'excitation a pu être démontrée dans un cas particulier : la stimulation électrique ou mécanique d'un point quelconque du corps cellulaire de *Carchesium* (Cilié Péritriche) déclenche la contraction du pédoncule (SUGI, 1960).

L'excitation de la surface cellulaire fait apparaître une variation du potentiel bioélectrique et de la résistance : ces modifications reflètent une évolution de la structure moléculaire de la membrane plasmatique. Or, nous savons que la stabilité structurale de cet organite est contrôlée par la quantité d'ions Ca^{++} fixés sur lui. A la surface d'un même Protozoaire, le seuil d'excitabilité n'est pas le même en tous points (GREBECKI, 1965 a) : ces variations topographiques correspondent à divers gradients superficiels (potentiel, résistance, densité des charges de surface).

La nature de la réponse cellulaire dépend non seulement du point excité, mais aussi de l'intensité du stimulus.

La réaction cellulaire comporte souvent la contraction d'éléments situés immédiatement sous la membrane (fibrilles ciliaires ou flagellaires, microfibrilles corticales). Il est permis de supposer que l'excitation provoque une libération d'ions Ca^{++} agissant comme médiateurs. Lorsqu'une excitation, dont l'intensité est compatible avec l'intégrité cellulaire, se prolonge, la membrane revient spontanément à son état de repos. Cette régulation fait intervenir des facteurs internes parmi lesquels une migration d'ions Ca^{++} du cytoplasme vers la membrane plasmatique doit être envisagée.

C. — MÉCANISME DE L'EXCITATION

Les indéniables progrès réalisés récemment dans l'étude expérimentale de l'excitation chez les Protozoaires ne sont pas suffisants pour permettre de comprendre dans le détail le mécanisme en cause. Néanmoins la confrontation des résultats acquis dans des cas particuliers suggère certaines hypothèses de travail. L'état d'excitation de la membrane plasmatique s'établit lorsque la proportion des sites anioniques occupés par Ca^{++} atteint une valeur critique, généralement faible (théorie de GREBECKI). Ceci se produit en particulier lorsque des cations, doués de propriétés différentes de celles de Ca^{++} , déplacent ce dernier. Il faut enfin envisager une fluctuation du nombre et de l'affinité des sites moléculaires sous l'effet de facteurs intrinsèques. C'est en ces termes que peut s'expliquer l'action des sels alcalins et de certains sels alcalino-terreux sur les Protozoaires. Les cations correspondants, de faible dimension, traversent facilement la couche muqueuse en sautant de sites en sites par déplacement d'équilibre au niveau des systèmes d'échange successifs. Ainsi les variations de la composition saline du milieu d'incubation se répercutent jusqu'aux macromolécules de la membrane plasmatique.

Par contre, la sensibilité des Protozoaires aux grosses molécules basiques qui ne peuvent pénétrer dans la couche muqueuse et qui demeurent adsorbées à sa face externe est plus difficile à interpréter. GINGELL (1967) a proposé une théorie applicable à ce cas particulier : la variation de la densité des charges superficielles libres consécutive à cette adsorption serait la cause de la transformation structurale de la membrane plasmatique. En effet toute altération du potentiel de surface modifie

le gradient transversal de potentiel BC régnant au niveau de la membrane plasmatique (fig. 4). GINGELL suppose que les fluctuations de ce profil de potentiel sont capables de transformer la structure des macromolécules : une évolution de l'affinité des sites phosphates pour Ca^{++} pourrait être en cause. L'hypothèse de GINGELL n'est pas dépourvue de base expérimentale : en effet BANGHAM et collaborateurs (1965) ont montré que la vitesse de diffusion de K^+ à travers un modèle phospholipidique dépendait du potentiel zeta de ce dernier. Il semble qu'en général toutes les membranes soient sensibles à une altération de leurs charges superficielles : ainsi la membrane nucléaire d'*A. proteus* se contracte soit par adsorption de molécules basiques (poly-L-lysine) soit par action de molécules acides en présence de Mg^{++} (KOROHODA et al., 1968) ; ces deux traitements modifient la densité des charges de surface. Pour être efficace, la combinaison des molécules basiques aux sites anioniques superficiels de la membrane doit avoir lieu dans des conditions très précises. RYSER (1967) a étudié, chez des cellules tumorales, la stimulation de l'absorption pinocytaire d'albumine provoquée par des polymères basiques de poids moléculaire variable. L'effet de ces derniers est d'autant plus marqué que leur degré de polymérisation est plus haut et que leur chaîne moléculaire est plus souple. Pour qu'une stimulation de la pinocytose se manifeste il faut que la molécule porte au moins trois fonctions cationiques.

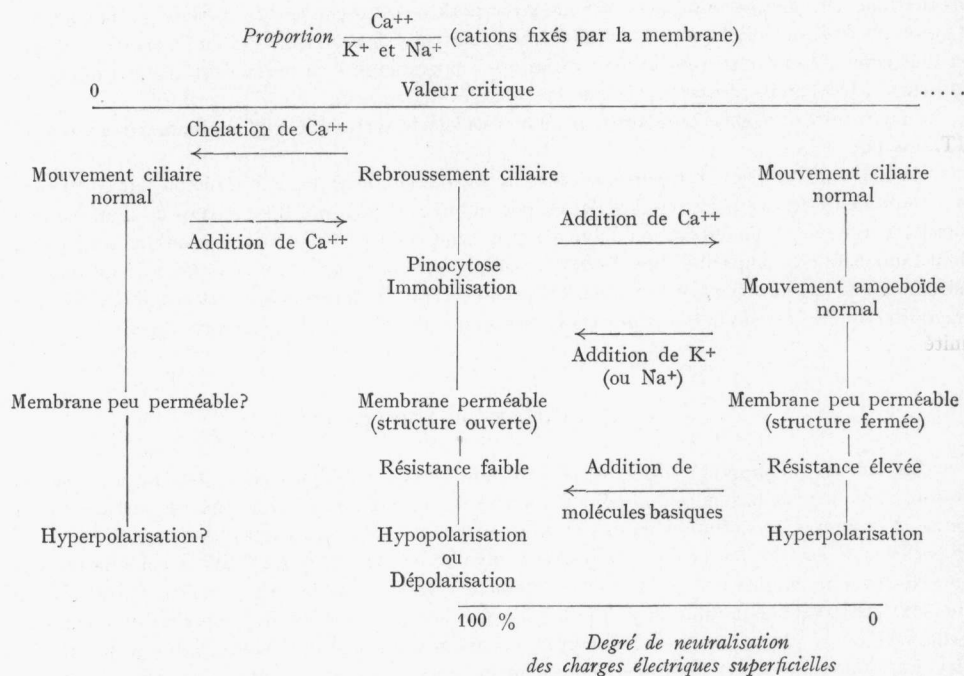


Schéma récapitulatif des réactions cellulaires à l'action des deux facteurs d'évolution structurale de la membrane plasmatique

L'hypothèse de GINGELL est essentiellement destinée à expliquer les réactions de deux cellules en voie d'accolement : lorsque la distance qui sépare les plans des sites anioniques devient égale ou inférieure à 20 Å, le potentiel de surface de chaque cellule augmente : il en résulte une variation du gradient transversal de potentiel de leur membrane plasmatique. C'est ainsi que chaque cellule serait « informée » de l'approche de l'autre ; en fait l'hypothèse d'un accolement aussi intime semble peu compatible avec les observations de CURTIS (1964). A cette restriction près, l'hypothèse de GINGELL

pourrait s'appliquer à la phagocytose avec contact préalable proie-phagocyte (*circumfluence*, *invagination* et *import* suivant la classification de RHUMBLER). Le choix des proies manifesté par les Protozoaires pose le problème de la spécificité du déclenchement de l'acte phagocytaire : outre l'interaction des potentiels, d'autres facteurs pourraient intervenir tels que décharge d'exsudats, compétition entre les deux microenvironnements vis-à-vis des cations Ca^{++} et établissement d'éventuelles liaisons chimiques lors du contact. Le mécanisme de la phagocytose demeure à peu près inconnu et c'est paradoxalement le processus d'ingestion par circumvallation qui a reçu un début d'explication (JEON et BELL, 1965).

L'expérience de RINALDI, relative à l'irradiation ultraviolette d'*A. proteus*, permet de formuler une hypothèse sur la nature chimique des molécules impliquées dans l'excitation du plasmalemm. LIEBERMAN (1967) a montré que les éléments responsables des propriétés électriques de l'axolemm des axones du crabe *Callinectes sapidus* étaient spécifiquement détruits par les rayons ultraviolets de 2 550 Å de longueur d'onde. Comme cette radiation est sélectivement absorbée par les nucléotides et en particulier par l'A. T. P., LIEBERMAN en déduit qu'un système A. T. P.-A. T. P.-ase intervient dans les échanges de K^+ à travers l'axolemm. DUNCAN (1966) a, par ailleurs, émis l'hypothèse d'un contrôle de la perméabilité passive de toutes les cellules par un tel système enzymatique. L'A. T. P.-ase serait située dans les enveloppes protéiques de la membrane plasmatique tandis que l'A. T. P. diffuserait à partir du cytoplasme où sa régénération est assurée par le chondriome. L'A. T. P.-ase est une protéine pratiquement identique à l'actomyosine dont la molécule peut subir des déformations considérables.

L'expérience de RINALDI évoquée précédemment suggère la présence d'un système A. T. P.-A. T. P.-ase dans le plasmalemm d'*A. proteus*. Ces substances ont été identifiées dans le cytoplasme de cette Amibe (SIMARD-DUQUESNE et COUILLARD, 1962) et dans celui d'*Acanthamoeba* (KLEIN, 1961); toutefois la présence d'A. T. P.-ase dans le plasmalemm est controversée (voir chap. I). Le système A. T. P.-A. T. P.-ase est activé par Na^+ et K^+ : il contrôlerait la fixation et la libération de cations Ca^{++} par la membrane plasmatique. A cette hypothèse s'opposerait l'absence d'activité de l'ouabaïne, chez les Protozoaires : cette objection serait levée s'il s'avérait que la couche muqueuse est effectivement imperméable à ce glucoside. Dans ces conditions il serait permis de supposer que l'unité fonctionnelle de la membrane plasmatique est formée d'A. T. P.-ase et de phospholipide.

D. — RÔLE DE LA COUCHE MUQUEUSE. PHÉNOMÈNE DE LA DESQUAMATION

La couche muqueuse est très développée chez de nombreux Protozoaires, en particulier chez les Amibes. Sa face externe porte les sites anioniques qui seraient à l'origine de la sensibilité cellulaire. GINGELL (1967) a montré que l'intercalation d'une couche perméable entre le plan des charges superficielles et la membrane plasmatique diminuait l'amplitude des variations du gradient transversal de potentiel consécutives à l'adsorption de substances cationiques. Cet effet est d'autant plus accentué que la couche en question est plus épaisse et plus perméable. Chez les Protozoaires libres soumis à de grandes fluctuations de la composition du milieu de vie, le développement de la couche muqueuse atténuerait leur « sensibilité » et aurait de ce fait une signification adaptative.

La couche muqueuse entretient au niveau de la membrane plasmatique une atmosphère de cations plus dense et plus stable que celle du milieu. Une forme de stimulation mécanique du plasmalemm pourrait consister en une rupture de la couche muqueuse, ce qui exposerait localement la membrane plasmatique au contact direct de la solution ambiante. CHRISTIANSEN et MARSHALL (1965) ont remarqué que les Paramécies qui heurtent la surface de *C. chaos* arrachaient à plusieurs reprises du matériel muqueux avant d'induire la formation d'une cupule phagocytaire.

La couche muqueuse s'oppose au passage des molécules volumineuses : elle protège ainsi la membrane plasmatique contre l'action de substances nocives : enzymes protéolytiques, alcaloïdes.

Les molécules basiques forment avec les mucopolysaccharides acides des complexes plus ou moins stables : un cas extrême est celui du bleu Alcian qui se fixe irréversiblement à la couche

muqueuse. Les sites anioniques superficiels sont donc plus ou moins rapidement bloqués par le matériel adsorbé et la sensibilité cellulaire aux stimuli de l'environnement diminue. Le renouvellement des molécules superficielles de la couche muqueuse devient alors nécessaire : il serait assuré par la « sécrétion » de macromolécules neuves et par l'élimination plus ou moins totale du matériel ancien (desquamation).

Un cas extrême de desquamation est le rejet d'une pellicule transparente continue qui a été signalée chez divers Protozoaires. KITCHING (1960, 1962) a observé l'élimination d'une pellicule chromotrope chez l'Héliozaire *Actinophrys sol* lorsqu'il est plongé dans une solution de protéines (sérumalbumine, ovalbumine, globuline, gélatine, ribonucléase) ou de colorants métachromatiques (bleu de toluidine, thionine) ; acides aminés et sels minéraux ne provoquent pas ce rejet. Par contre, l'addition d'un sel de magnésium inhibe la desquamation : les sels de calcium et de strontium ont une action identique mais plus faible. Cet antagonisme est vraisemblablement un aspect de la compétition entre cations bivalents et protéines vis-à-vis des sites superficiels de la membrane.

Chez *Blepharisma undulans* (Cilié Spirotriche), NADLER (1929) a constaté l'élimination d'un film hyalin par action d'alkaloïdes (sulfates de strychnine, de morphine et de cocaïne ; chlorhydrate de codéine ; novocaïne) dont les groupes basiques pourraient se combiner aux sites anioniques de la tectine.

ROBERTSON (1939) a observé la chute d'une pellicule hyaline chez *Tetrahymena* mis en présence d'antisérum. La réaction anticorps-antigène à la surface du Cilié bloque vraisemblablement les sites superficiels.

Acanthamoeba plongée dans une solution de bleu Alcian à 1 p. 1 000 abandonne un matériel hyalin teinté de bleu lorsqu'elle reprend sa locomotion (PUSSARD, non publié). Dans des cultures âgées, *Gocevia fonbrunei* (Thecamœbien) perd sporadiquement et spontanément son capuchon muqueux (PUSSARD, 1965).

Dans la plupart des cas, la desquamation apparaît comme une réaction à une altération massive et brutale de la couche muqueuse. Dans les conditions naturelles le renouvellement de cette dernière est diffus : il est probablement réalisé par l'abandon de lambeaux qui sont remplacés par du matériel mucopolysaccharidique neuf sous-jacent.

Reçu pour publication en juillet 1968.

SUMMARY

THE MEMBRANE OF PROTOZOA, THE ORGANELLE GIVING RISE TO EXCITABILITY AND TO INGESTION

The membrane of many Protozoa, such as Amoeba, Heliozoa, some Ciliata and Flagellata, is featured by the development of its mucous coat. In some groups, e. g., Ciliata, Flagellata, the surface of the body is made more or less rigid owing to permanent cuticular differentiations ; ingestion of particulate or dissolved material (phagotrophy) occurs in a specific area which is structurally like that of the cortex and plasma membrane of Amoeba. It is its unusual deformative ability (pseudopodal emission, invagination) that confers to this type of cell surface its high phagotrophic activity.

The membrane is highly responsive to stimuli : it conveys the intelligence that triggers in Protozoa either an approaching prey and their selective ingestion (food selection), or their flight when facing locally various physico-chemical conditions (reaction of avoidance).

Such responsiveness might be situated at the level of the plasmatic membrane the molecular assembly of which (phosphatides, enzymaticlike proteins) may change its structure transiently in accordance with the equilibrium : closed to open unstable structure, and vice versa.

These tentative results enable to ascribe the establishment of an open structure to two changing factors, as follows :

1. the proportion of Ca^{++} ions and alkaline cations which are fixed by the molecules of the plasmatic membrane :

2. the transverse gradient of the potential, which depends on the extent to which the superficial anionic charges of the cell are neutralized.

The open structure appears when the cationic proportion takes a value lying within a given critical interval. Such not being the case, the structure of the membrane remains closed : the farther the cationic proportion from the critical interval the more stable that condition shall be. May be changes in the characteristic of the potential take effect by altering the affinity of molecular positions with respect to the two types of competing cations.

The open-structure condition corresponds to an increased diffusion of K^+ , to hypopolarization and to a decreased resistance of the membrane. Concomitantly, locomotory disturbances develop (ciliary reversal in Ciliata, immobilization in Amoeba).

The release of Ca^{++} ions on the inner side of the plasmatic membrane might be the mediative factor giving rise to the contraction of the underlying fibrillary elements.

Even in Amoeba, the surface molecular structure is inhomogeneous : there is a structural gradient (cell polarity) which is incidental to the mobility of Protozoa. Hence, various areas of the selfsame individual may respond differently to a particular stimulus.

Localized excitation of the cell surface usually restricts the response so brought about to the peripheral area : a surface gradient of ion and molecular changes is established around the stimulated point, the response of the cell being exhibited where the more auspicious structural conditions obtain (ring-shaped reaction).

When Protozoa move in a diffusion gradient of basic-molecule substance, an adsorption gradient comes about at the membrane surface whence mobility in direction (chemotaxis).

The mucous coat chiefly consists of acid mucopolysaccharides which are secreted outside the cell. It is the properties of these molecules (especially that of exchanging cations) which protect the plasma membrane and provide the transition to the environment.

The outer side of the mucous coat carries the anionic positions to which is apparently ascribable the responsiveness of the cell to various cationic substances.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDRUS W. De W., GIESE A. C., 1963. Mechanisms of sodium and potassium regulation in *Tetrahymena pyrigormis* strain W. *J. cell. comp. Physiol.*, **61**, 17-30.
- ASHWORTH C. T., LUIBEL F. J., STEWART S. C., 1963. In FRAZER A. C. *Biochemical problems of lipids*, 130-143, Elsevier, Amsterdam.
- BAIRATI A., LEHMANN F. E., 1953. Structural and chemical properties of the plasmalemma of *Amoeba proteus*. *Exper. Cell Res.*, **5**, 220-233.
- BAND R. N., 1964. Extrinsic requirements for encystation by the soil Amoeba, *Hartmannella rhysodes*. *J. Protozool.*, **10**, 101-107.
- BAND R. N., IRVINE B., 1965. The electrokinetic characteristics of small Amœbae. *Exper. Cell Res.*, **39**, 121-128.
- BANGHAM A. D., STANDISH M. M., WATKINS J. C., 1965. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J. molec. Biol.*, **13**, 238-252.
- BANGHAM A. D., PAPAHAJOPOULOS D., 1966. Biophysical properties of phospholipids. I. Interaction of phosphatidylserine monolayers with metal ions. *Biochim. Biophys. Acta*, **126**, 181-184.
- BATUEVA I. V., LEV A. A., 1967. Propriétés électrochimiques du plasmalemma d'*Amoeba proteus*. I. Variations du potentiel de membrane en fonction de la concentration du potassium et du sodium dans des solutions de chlorure et de sulfate (en russe). *Citologija S. S. S. R.*, **9**, 680-691.
- BHOWMICK D. K., 1967. Electron microscopy of *Trichamoeba villosa* and amoeboid movement. *Exper. Cell Res.*, **45**, 570-589.
- BINGLEY M. S., 1966 a. Membrane potentials in *Amoeba proteus*. *J. exper. Biol.*, **45**, 251-267.
- BINGLEY M. S., 1966 b. Further investigations into membrane potentials in Amœbae. *Exper. Cell Res.*, **43**, 1-12.
- BINGLEY M. S., BELL L. G. E., JEON K. W., 1962. Pseudopod initiation and membrane depolarisation in *Amoeba proteus*. *Exper. Cell Res.*, **28**, 208-209.
- BINGLEY M. S., THOMPSON C. M., 1962. Bioelectric potentials in relation to movement in Amœbae. *J. theoret. Biol.*, **2**, 16-32.
- BIRNS M., 1960. The localization of acid phosphatase activity in the Amoeba, *Chaos chaos*. *Exper. Cell Res.*, **20**, 202-205.
- BLAUSTEIN M. P., 1967. Phospholipids as ion exchangers implications for a possible role in biological membrane excitability and anesthesia. *Biochem. Biophys. Acta*, **135**, 653-668.

- BRANDT P. W., 1958. A study of the mechanism of pinocytosis. *Exper. Cell Res.*, **15**, 360-313.
- BRANDT P. W., PAPPAS G. D., 1962. An electron microscopic study of pinocytosis in Amoeba. II. The cytoplasmic uptake phase. *J. Cell Biol.*, **15**, 55-71.
- BRANDT P. W., FREEMAN A. R., 1967. Plasma membrane : substructural changes correlated with electrical resistance and pinocytosis. *Science, U. S. A.*, **155**, 582-585.
- BRUCE D. L., MARSHALL J. M., jr, 1965. Some ionic and bioelectric properties of the Amoeba *Chaos chaos*. *J. gen. Physiol.*, **49**, 151-178.
- CARASSO N., FAVARD P., 1966. Mise en évidence du calcium dans les myonèmes pédonculaires des Ciliés Péritriches. *Microscopie*, **5**, 759-770.
- CARTER L., 1957. Ionic regulation in the ciliate *Spirostomum ambiguum*. *J. exper. Biol.*, **34**, 71-84.
- CHAPMAN L. F., JAHN T. L., CIRILLO V. P., 1964. Sugar and fatty acid permeability in *Polytoma obtusum*. *J. Protozool.*, **11**, suppl. 21.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., 1958. Pinocytosis of inorganic salts by *Amoeba proteus*. *C. R. Lab. Carlsberg. Ser. Chim.*, **31**, 77-92.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., 1962. Studies on pinocytosis in Amoeba. *C. R. Lab. Carlsberg, Ser. Chim.*, **33**, 73-264.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., 1963. In LUDVIK J., LOM J., VAVRA J. *Progr. Protozoology*, 267, Prague.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., 1964. Surface renewal in *Amoeba proteus*. *J. Protozool.*, **11**, suppl. 11.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., DICK D. A. T., 1960-1962. Sodium and bromine fluxes in the Amoeba *Chaos chaos* L. *C. R. Lab. Carlsberg, Ser. Chim.*, **32**, 445-468.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., HOLTER H., 1955. Studies on the ingestion of C^{14} glucose by pinocytosis in the Amoeba *Chaos chaos*. *Exper. Cell Res.*, suppl. **3**, 52-63.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., LAGUNOFF D., 1966. The distribution of acid phosphatase in the Amoeba [*Chaos chaos* L.]. *C. R. Lab. Carlsberg, Ser. Chim.*, **35**, 419-436.
- CHEISSIN E. M., MOSSEVITCH T. N., 1963. In LUDVIK J., LOM J. et VAVRA J. *Progr. Protozoology*, 414, Prague.
- CHRISTIANSEN R. G., MARSHALL J. M., 1965. A study of phagocytosis in the Amoeba *Chaos chaos*. *J. Cell Biol.*, **25**, 443-457.
- COMANDON J., FONBRUNE P. de, 1942. Action de la colchicine sur *Amoeba sphaeronucleus*. Obtention de variétés géantes. *C. R. Soc. Biol.*, **136**, 410-411.
- CURTIS A. S. G., 1964. The mechanism of adhesion of cells to glass. *J. Cell Biol.*, **20**, 199-215.
- CZARSKA L., 1965. Cytoplasmic streaming in *Paramecium caudatum*, exposed to electric field. *Acta Protozool.*, **3**, 269-274.
- CZARSKA L., GREBECKI A., 1966. Membrane folding and plasma-membrane ratio in the movement and shape transformation in *Amoeba proteus*. *Acta Protozool.*, **4**, 201-240.
- DANIELS E. W., BREYER E. P., 1967. Ultrastructure of the giant Amoeba *Pelomyxa palustris*. *J. Protozool.*, **14**, 167-179.
- DANIELLI J. F., DAVSON H., 1935. A contribution to the theory of permeability of thin films. *J. cell. comp. Physiol.*, **5**, 495-508.
- DRYL S., GREBECKI A., 1966. Progress in the study of excitation and response in Ciliates. *Protoplasma*, **62**, 255-284.
- DUNCAN C. J., 1966. Properties and stabilization of the lysosomal membrane. *Nature, Londres*, **210**, 1229-1230.
- DUNHAM P. B., CHILD F. M., 1961. Ion regulation in *Tetrahymena*. *Biol. Bull.*, **121**, 129-140.
- DUNHAM P. B., STONER L. C., 1967. Regulation of intracellular sodium concentration by the contractile vacuole in *Tetrahymena*. *J. Protozool.*, **14**, suppl. 34.
- ECKERT R., SIBAOKA T., 1967. Bioelectric regulation of tentacle movement in a Dinoflagellate. *J. exper. Biol.*, **47**, 433-446.
- ELLIS W. N., 1929. Recent researches on the *Choanoflagellata* (Craspedomonadines). *Ann. Soc. roy., Zool. Belg.*, **60**, 9-88.
- FABRE P., 1947. Particularités du mouvement des Paramécies décalcifiées par le citrate de sodium. Galvanotropisme indifférent. *C. R. Soc. Biol.*, **136**, 332-334.
- FAURE-FREMIET E., 1905. Contribution à l'étude des protoplasmas. Le *Cochliopodium pellucidum* var. *putrinum*. *Arch. Anat. Microsc.*, **8**, 1-68.
- FAVARD P., CARASSO N., 1964. Étude de la pinocytose au niveau des vacuoles digestives de Ciliés Péritriches. *J. Microscopie*, **3**, 671-696.
- FINEAN J. B., 1953. Further observations on the structure of myelin. *Exper. Cell Res.*, **5**, 202-215.
- FORRESTER J. A., GINGELL D., KOROHODA W., 1967. Electrophoretic polarity exhibited by amoeboid cells of *Naegleria gruberi*. *Nature, Londres*, **215**, 1409-1410.
- GINGELL D., 1967. Membrane surface potential in relation to a possible mechanism for intercellular interactions and cellular responses : a physical basis. *J. theor. Biol.*, **17**, 451-482.

- GOLDACRE R. J., LORCH I. J., 1950. Folding and unfolding of protein molecules in relation to cytoplasmic streaming amoeboid movement and osmotic work. *Nature*, Londres, **166**, 497-499.
- GREBECKI A., 1963 a. Point isoélectrique superficiel et quelques réactions locomotrices chez *Paramecium caudatum*. *Protoplasma*, **56**, 80-88.
- GREBECKI A., 1963 b. Électrobiologie d'ingestion des colorants par le cytostome de *Paramecium caudatum*. *Protoplasma*, **56**, 89-98.
- GREBECKI A., 1964. Role des ions K^+ et Ca^{2+} dans l'excitabilité de la cellule protozoaire. I. Équilibre des ions antagonistes. *Acta Protozool.*, **2**, 69-79.
- GREBECKI A., 1965 a. Gradient stomato-caudal d'excitabilité des Ciliés. *Acta Protozool.*, **3**, 79-100.
- GREBECKI A., 1965 b. Role of Ca^{2+} ions in the excitability of protozoan cell. Decalcification, recalcification and the ciliary reversal in *Paramecium caudatum*. *Acta Protozool.*, **3**, 275-290.
- GREEN D. E., PERDUE J. F., 1966. Membranes as expressions of repeating units. *Proc. nation. Acad. Sci., U. S. A.*, **55**, 1295-1302.
- GRIFFITHS A. J., HUGHES D. E., 1967. The physiology of encystment and excystment of *Hartmannella castellanii* NEFF. *J. Protozool.*, **14**, suppl. 40.
- GROSSE-ALLERMANN W., 1909. Studies über *Amoeba terricola* GREEFF. *Arch. Protistenkunde*, **17**, 203-257.
- HAHNERT W. F., 1931. A quantitative study of reactions to electricity in *Amoeba proteus*. *Physiol. Zool.*, **5**, 49-526.
- HALEVY S., AVIVI L., KATAN H., 1966. Sterols of soils Amoebas and *Ochromonas danica* : phylogenetic approach. *J. Protozool.*, **13**, 480-483.
- HAYWARD A. F., 1963. Electron microscopy of induced pinocytosis in *Amoeba proteus*. *C. R. Lab. Carlsberg*, **33**, 535-558.
- HODGKIN A. L., KATZ B., 1949. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.*, 37-77.
- HOKIN L. E., HOKIN M. R., 1961. Studies on the carrier function of phosphatidic acid in sodium transport. I. The turnover of phosphatidic acid and phospho-inositide in the avian salt gland on stimulation of secretion. *J. gen. Physiol.*, **44**, 61-85.
- HOSKINS G. C., DANIELLI J. F., 1967. Reversibility of a unidirectional transport mechanism in food vesicle membranes of *Amoeba proteus*. *J. Cell Biol.*, **35**, 150 A.
- JAHN T. L., 1961. The mechanisms of ciliary movement. I. Ciliary reversal and activation by electric current; the LUDLOFF phenomenon in terms of core and volume conductors. *J. Protozool.*, **8**, 369-380.
- JAHN T. L., 1962 a. A theory of electronic conduction through membranes and of active transport of ions based on redox transmembrane potentials. *J. theor. Biol.*, **2**, 129-138.
- JAHN T. L., 1962 b. The mechanism of ciliary movement. II. Ion antagonism and ciliary reversal. *J. cell. comp. Physiol.*, **60**, 217-228.
- JAHN T. L., 1966. Contraction of protoplasma. II. Theory anodal vs cathodal in relation to calcium. *J. cell. comp. Physiol.*, **68**, 135-148.
- JAHN T. L., 1967. The mechanism of ciliary movement. III. Theory of suppression of reversal by electrical potential of cilia reversed by barium ions. *J. cell. comp. Physiol.*, **70**, 79-90.
- JEON K. W., BELL L. G. E., 1962. Pseudopod and foodcup formation in *Amoeba proteus*. *Exper. Cell Res.*, **27**, 350-352.
- JEON K. W., BELL L. G. E., 1964. Behaviour of cell membrane in relation to locomotion in *Amoeba proteus*. *Exper. Cell Res.*, **33**, 531-539.
- JEON K. W., BELL L. G. E., 1965. Chemotaxis in large, free-living Amoeba. *Exper. Cell Res.*, **38**, 536-555.
- JONES A. R., 1967. Calcium and phosphorus accumulation in *Spirostomum ambiguum*. *J. Protozool.*, **14**, 220-225.
- JONES A. R., JAHN T. L., 1964. The effect of hexamethonium chloride on the ciliary and myonema, systems of *Spirostomum*. *J. Protozool.*, **11**, suppl. 32.
- JONES I. G., 1965. Studies on characterization and structure of the immobilization antigens of *Paramecium aurelia*. *Biochem. J.* **96**, 17-23.
- KAMADA T., 1938. Intracellular calcium and ciliary reversal in *Paramecium*. *Proc. Imp. Acad., Tokyo*, **14**, 260-262.
- KAMADA T., KINOSITA H., 1940. Calcium-potassium factor in ciliary reversal of *Paramecium*. *J. Fac. Sci., Tokyo*, **16**, 125-130.
- KATCHALSKY A., 1964. Polyelectrolytes and their biological interactions. *Biophys. J.*, **4**, I, 9-41.
- KAVANAU J. L., 1965. *Structure and function in biological membranes.*, vol. 1 et 2, 750 p. Holden-Day, Inc., San Francisco.
- KINOSITA H., DRYL S., NAITOH Y., 1964. Changes in the membrane potential and the responses to stimuli in *Paramecium*. *J. Fac. Sci. Univ., Tokyo*, IV, **10**, 291-301.
- KISHIMOTO U., 1958. Rhythmicity in the protoplasmic streaming of a slime mold *Physarum polycephalum*, I. A statistical analysis of the electric potential rhythm. *J. gen. Physiol.*, **41**, 1205-1222.
- KITCHING J. A., 1960. Responses of the Heliozoon *Actino phryssol* to prey, to mechanical stimulation and the solution of proteins and certain other substances. *J. exper. Biol.*, **37**, 407-416.

- KITCHING J. A., 1962. Desquamation in *Actinophrys*: induction and inhibition. *J. exper. Biol.*, **39**, 359-372.
- KLEIN R. L., 1959. Transmembrane flux of K^{42} in *Acanthamoeba* sp. *J. cell. comp. Physiol.*, **53**, 241-258.
- KLEIN R. L., 1961. Homeostatic mechanisms for cation regulation in *Acanthamoeba* sp. *Exper. Cell Res.*, **25**, 571-584.
- KLEIN R. L., 1964. Effects of active transport inhibitors on K movements in *Acanthamoeba* sp. *Exper. Cell Res.*, **34**, 231-238.
- KOROHODA I., FORRESTER A., MOREMAN K. G., AMBROSE E. J., 1968. Size changes in isolated nuclei of *Amoeba proteus* on treatment with polyenic substances. *Nature*, Londres, **217**, 615-617.
- KULONEN E., 1953. On the relation of hyaluronic acid to the water and electrolyte metabolism. *Acta Physiol. Scand.*, **27**, 82-90.
- KUZNICKI L., 1966. Role of Ca^{++} ions in the excitability of protozoan cell. Calcium factor in the ciliary reversal induced by inorganic cations in *Paramecium caudatum*. *Acta protozool.*, **4**, 241-256.
- LANSING A. I., 1938. Localization of calcium in *Paramecium caudatum*. *Science*, U. S. A., **87**, 303-304.
- LIEBERMAN E. M., 1967. Structural and functional sites of action of ultraviolet radiations in crab nerve fibres. III. The photo inactivation of a $Na^{+} - K^{+}$ activated A.T.P.-ase system and its correlation with inactivation of excitability. *Exper. Cell Res.*, **47**, 518-535.
- LOVTRUP S., PIGON A., 1951. Diffusion and active transport of water in the Amoeba *Chaos chaos* L. *C. R. Lab. Carlsberg. Ser. Chim.*, **28**, 1-36.
- MARSHALL J. M., NACHMIAS V. T., 1965. Cell surface and pinocytosis. *J. Histochem. Cytochem.*, **13**, 92-104.
- MAST S. O., 1926. Structure, movement, locomotion and stimulation in Amoeba. *J. Morphol.*, **41**, 347-425.
- MAST S. O., BOWEN W. S., 1944. The food-vacuole in the Peritricha, with special reference to the hydrogen-concentration of its content and of the cytoplasm. *Biol. Bull.*, **87**, 188-222.
- MAST S. O., NADLER J. E., 1926. Reversal of ciliary action in *Paramecium caudatum*. *J. Morphol.*, **43**, 105-117.
- MIGNOT J. P., 1965. Étude ultrastructurale de *Cyathomonas truncata* FROM. (Flagellé Cryptomonadine) *J. Microscopie*, **4**, 239-252.
- MIGNOT J. P., 1966. Structure et ultrastructure de quelques Euglénomonadines. *Protistologica*, **2**, 51-117.
- MILLER O. L., STONE G. E., 1963. Fine structure of the oral area of *Tetrahymena patula*. *J. Protozool.*, **10**, 280-288.
- NACHMIAS V. T., 1964. Fibrillar structures in the cytoplasm of *Chaos chaos*. *J. Cell Biol.*, **23**, 183-188.
- NACHMIAS V. T., 1965. A note on the surface coat of the Amoeba *Chaos chaos*. *Exper. Cell Res.*, **38**, 129-142.
- NACHMIAS V. T., 1966. A study by electron microscopy of the formation of new surface by *Chaos chaos*. *Exper. Cell Res.*, **43**, 583-601.
- NADLER J. E., 1929. Notes on the loss and regeneration of the pellicle in *Blepharisma undulans*. *Biol. Bull.*, **56**, 327-330.
- NAGAI T., 1960 a. Contraction of *Paramecium* by transmembrane electrical stimulation. *J. Fac. Sci.*, Tokyo, IV, **8**, 617-631.
- NAGAI T., 1960 b. Local contraction of *Paramecium* ectoplasm by $CaCl_2$ stimulation. *J. Fac. Sci.* Tokyo, IV, **8**, 633-641.
- NAITOH Y., 1958. Direct current stimulation of *Opalina* with intracellular microelectrode. *Annot. Zool. Japon*, **31**, 69-78.
- NAITOH Y., 1966. Reserval response elicited in non beating cilia of *Paramecium* by membrane depolarization. *Science*, U. S. A., **154**, 660-662.
- NAITOH, YASUMASU I., 1967. Binding of Ca ions by *Paramecium caudatum*. *J. gen. Physiol.*, **40**, 1303-1310.
- NILSSON J. R., WILLIAMS N. E., 1966. An electron microscope study of the oral apparatus of *Tetrahymena pyriformis*. *C. R. Lab. Carlsberg Ser. Chim.*, **35**, 119-141.
- O'NEILL C. H., 1964. Isolation and properties of the cell surface membrane of *Amoeba proteus*. *Exper. Cell Res.*, **35**, 477-496.
- OUTKA D. E., KLUS B. C., 1967. The Amebo-to-Flagellate transformation in *Tetramitus rostratus*. II. Microtubular morphogenesis. *J. Cell Biol.*, **35**, 323-346.
- PAPADIMITRIOU J. M., 1966. Cell membrane changes during contact with some microorganisms. *Nature*, Londres, **212**, 631.
- PAPAHADJOPOULOS D., BANGHAM A. D., 1966. Biophysical properties of phospholipids. II. Permeability of phosphatidylserine liquid crystals to univalent ions. *Biochem. Biophys. Acta*, **126**, 186-188.
- PAPAHADJOPOULOS D., WATKINS J. C., 1967. Phospholipid model membranes. II. Permeability properties of hydrated liquid crystals. *Biochem. Biophys. Acta*, **135**, 639-652.
- PAPPAS G. D., 1954. Structural and cytochemical studies of the cytoplasm in the family *Amoebidae*. *Ohio, J. Sci.*, **54**, 195-222.
- PAPPAS G. D., 1969. Electron microscope study en Amoebas, in : *N. Y. Acad. Sci.*, **78**, 448-473.
- PENARD E., 1905. Observations sur les Amibes à pellicule. *Arch. Protistenkunde*, **6**, 175-206.
- PITELKA D. R., 1963. In LUDVIK J., LOM J., VAVRA J., *Progr. Protozoology*, 405, Prague.

- PITTS R. F., MAST S. O., 1934. The relation between inorganic salt concentration, hydrogen ion concentration and physiological process in *Amoeba proteus*. III. The interaction between salts (antagonism) in relation to hydrogen ion concentration and salt concentration. *J. cell. comp. Physiol.*, **4**, 435-455.
- PRESCOTT D. M., ZEUTHEN E., 1953. Water diffusion and water filtration across cell surfaces. *Acta Physiol. Scand.*, **28**, 77-94.
- PUSSARD N., 1965. Cuticule et caryocinèse de *Gocevia fonbrunei* n. sp. (*Cochliopodiidae-Testacea lobosa*). *Arch. Zool. Exper. Gen.*, **105**, 101-117.
- PUSSARD M., 1966. Le genre *Acanthamoeba* VOLKONSKY 1931. (*Hartmannellidae-Amoeboidea*). *Protistologica*, **2**, 71-93.
- RIDDLE J., 1962. Studies on the membrane potential of *Pelomyxa carolinensis*. *Exper. Cell Res.*, **26**, 158-167.
- RINALDI R. A., 1959. The induction of pinocytosis in *Amoeba proteus* by ultraviolet radiation. *Exper. Cell Res.*, **18**, 70-75.
- ROBERTSON J. D., 1960. The molecular structure and contact relationships of cell membranes. *Prog. Biophysics Biophys. Chemistry*, **10**, 343-418.
- ROBERTSON M., 1939. A study of the reactions *in vitro* of certain ciliates belonging to the *Glaucoma-Colpidium* group to antibodies in the sera of rabbits immunized therewith. *J. Pathol. Bacteriol.*, **48**, 305-322.
- ROGERS H. J., 1961. Structure and function of hyaluronate. In *Biochemical Society Symposia* n° 20, 51-78, Cambridge.
- ROSENBAUM R. M., WITTNER M., 1962. The activity of intracytoplasmic enzymes associated with feeding and digestion in *Paramecium caudatum*. The possible relationship to neutral red granules. *Arch. Protistenkunde*, **106**, 223-240.
- RYSER H. J. P., 1967. A membrane effect of basic polymers dependant on molecular size. *Nature*, Londres, **215**, 934-936.
- SBARRA A. J., SHIRLEY W., BARDAWIL W. A., 1962. « Piggy back » phagocytosis. *Nature*, Londres, **194**, 255-256.
- SCHMIDT-NIELSEN B., SCHRAUGER C. R., 1963. *Amoeba proteus*: studying the contractile vacuole by micropuncture. *Science*, U. S. A., **139**, 606-607.
- SCHNEIDER L., 1964. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Ernährungsorganellen von *Paramecium*. I. Der Cytopharynx. *Z. Zellforsch.*, **62**, 198-224.
- SELLS B. E., SIX N., 1959. L'adénosine triphosphatase (A. T. P.-ase) de la membrane d'*Amoeba proteus*. *Arch. internation. Physiol. Biochem.*, **67**, 123-125.
- SIMARD-DUQUESNE N., COUILLARD P., 1962. Amoeboid movement. II. Research of contractile proteins in *Amoeba proteus*. *Exper. Cell Res.*, **28**, 92-98.
- SPEK J., GILLISSEN G., 194. Die Zellmembran der Amöben, eine chromotrope Substanz. *Protoplasma*, **37**, 259.
- STEPHENS G. C., KERR N. S., 1962. Uptake of phenyl-alanine by *Tetrahymena pyriformis*. *Nature*, Londres, **194**, 1094-1095.
- STOCKEM W., 1966. Pinocytose und Bewegung von Amöben I. Die Reaktion von *Amoeba proteus* auf verschiedene Markierungssubstanzen. *Z. Zellforsch.*, **74**, 372-400.
- SUGI H., 1960. Propagation of contraction in the stalk muscle of *Carchesium*. *J. Fac. Sci.*, Tokyo, IV, **8**, 603-615.
- SZUBINSKA B., 1964. Electron microscopy of the interaction of ruthenium violet with the cell membrane complex of *Amoeba proteus*. *J. Cell Biol.*, **23**, 92 A.
- TASAKI I., KAMIYA N., 1964. A study on electrophysiological properties of carnivorous *Amoeba*. *J. cell. comp. Physiol.*, **63**, 365-380.
- THOMPSON G. A., jr., 1967. Studies of membrane formation in *Tetrahymena pyriformis*. I. Rates of phospholipid biosynthesis. *Biochemistry*, **6**, 2015-2022.
- TOBIAS J. M., 1964. A chemically specified molecular mechanism underlying excitation in nerve: a hypothesis. *Nature*, Londres, **203**, 13-17.
- TOWNES M. N., BROWN D. E. S., 1965. The involvement of pH, adenosine triphosphate, calcium and magnesium in the contraction of the glycerinated stalks of *Vorticella*. *J. cell. comp. Physiol.*, **65**, 261-270.
- UEDA K., 1961. Electrical properties of *Opalina*. II. Factors affecting the membrane resistance. *Annot. Zool.*, Japon, **34**, 161-189.
- VICKERMAN K., 1962. Patterns of cellular organisation in *limax* Amoeba. An electron microscope study. *Exper. Cell Res.*, **26**, 497-519.
- WEISS L., 1967. Studies of cell deformability. IV. A possible role of calcium in cell contact phenomena. *J. Cell Biol.*, **35**, 347-356.
- WRIGHT B. E., 1964. In HUTNER S. H. *Biochemistry and physiology of Protozoa*. Vol. 3, 341-381, Academic Press, N. Y. Londres.
- WOHLFARTH-BOTTERMANN K. E., 1960. Protistenstudien, X. Licht- und elektronenmikroskopische untersuchungen an der Amöbe *Hyalodiscus simplex* n. sp. *Protoplasma*, **52**, 58-107.
- WOHLFARTH-BOTTERMANN K. E., 1964. Cell structures and their significance for amoeboid movement. *Internation. Rev. Cytol.*, U. S. A., **16**, 61-131.

- WOHLFARTH-BOTTERMANN K. E., STOCKEN W., 1966. Pinocytose und Bewegung von Amöben. II Permanente und induzierte Pinocytose bei *Amoeba proteus*. *Z. Zellforsch.*, **73**, 444-474.
- WOLPERT L., O'Neill C. M., 1962. Dynamics of the membrane of *Amoeba proteus* studied with labelled specific antibody. *Nature*, Londres, **196**, 1261-1266.
- YAMAGUCHI T., 1960 a. Studies on the modes of ionic behaviour across the ectoplasma membrane of *Paramecium*. I. Electric potential differences measured by the intracellular microelectrode. *J. Fac. Sci.*, Tokyo, IV, **8**, 573-592.
- YAMAGUCHI T., 1963. Time exchanges in Na, K and Ca contents of *Paramecium caudatum* after irradiation. *Annot. Zool. Japon*, **36**, 55-65.
-

INFORMATIONS

CRÉATION D'UNE SOCIÉTÉ D'ÉCOLOGIE

Réunis au Muséum le 26 octobre 1968, un certain nombre d'Écologistes ont décidé de créer une Société d'Écologie.

Cette société, régie par les statuts de la loi de 1901, aura pour but d'encourager et de développer les études écologiques au sens le plus large, de faciliter les relations entre les écologistes et de favoriser la constitution d'équipes centrées sur des problèmes fondamentaux ou régionaux.

L'Écologie, science de synthèse, doit se développer rapidement et unir des spécialistes de disciplines très variées : zoologistes, botanistes, agronomes, géographes, climatologistes, urbanistes, paysagistes, démographes etc. L'écologie humaine, l'aménagement rationnel des cités et des campagnes sont fonction d'une bonne connaissance de l'environnement.

En l'attente d'une Assemblée générale qui se réunira en janvier ou février 1969, un Bureau provisoire a été désigné. Il est composé des chercheurs suivants :

BONDoux P.	LOSSAINT P.
BOUCHE M.	DE PARCEVAUX S.
DELAMARE-DEBOUTTEVILLE C.	RICHARD L.
DUSSART B.	RICOU G.
GRISON P.	SCHACHTER D.
LABEYRIE V.	TURMEL J.-M.
LEMÉE G.	WAUTIER J.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire* : il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *sommaire* : résumé suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion* ; f) *résumé* destiné à être traduit en anglais comportant une analyse complète de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très complet. Les figures, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de et al. A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.* ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les figures ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des figures et dessins doivent être dactylographiés sur feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les figures, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés à l'état de projets, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : soit $\times 0,5$, soit $\times 0,25$.

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 16 × 24 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront une épreuve à corriger.

Envoi du manuscrit : M. BILIOTTI, Centre national de Recherches agronomiques, 78 - Versailles, France. On demande deux exemplaires.

ZOOLOGIE.

Le Directeur de la publication: M.-L. CAGNAC

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 5-1969

Dépôt légal: 2^e trimestre 1969. N^o d'impression: 346.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

ANNALES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1969	France	Étranger	Le N°
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 n°s par an	125 F	135 F	25 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 n°s par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 n°s par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOLOGIE-ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 n°s par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 n°s par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 n°s par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 4 n°s par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE, 4 n°s par an	75 F	80 F	25 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 n°s par an	75 F	80 F	25 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 n°s par an	100 F	110 F	35 F

PUBLICATIONS NON PÉRIODIQUES

Prix T.T.C.

Recherches d'économie et de sociologie rurales :

Le n° 1	11,20 F
Souscription pour les 4 premiers numéros :	35,00 F

Recherches vétérinaires :

Le n° 1	22,30 F
---------------	---------

Recherches d'hydrobiologie continentale :

Le n° 1	16,75 F
---------------	---------

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Applications de l'électricité à la biologie et à l'aménagement des pêches continentales, publié sous la direction de R. Vibert.

276 p. 1968	35,00 F
-------------------	---------

Les leucoses animales, par C. Lombard.

215 p., 1968	27,90 F
--------------------	---------

Fermentations et vinifications. II^e Symposium international d'Œnologie tenu à Bordeaux-Cognac, les 13-17 juin 1967.

656 p., 2 volumes, 1968	68,00 F
-------------------------------	---------

Bases et techniques d'une cartographie des sols, par M. Jamagne.

142 p. (dont 3 cartes des sols sous pochette annexe), 1967	45,00 F
--	---------

X^e Congrès européen sur les groupes sanguins et le polymorphisme biochimique des animaux.

544 p., 1967	55,90 F
--------------------	---------

Atlas stéréotaxique du cerveau de brebis *Préalpes du Sud*, par P. Richard

76 p. (dont 26 planches en phototypie), 1967	55,90 F
--	---------

Carte pédologique de la France, à l'échelle du millionième et notice explicative, par J. Dupuis.

56 p., 1967	61,50 F
-------------------	---------

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78 - Versailles.

Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I. N. R. A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U. N. E. S. C. O.

Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles. A Paris, bureau de vente : 11, rue Jean-Nicot, 7^e.

TABLE DES MATIÈRES

E. BILIOTTI. — <i>Avant-propos</i>	5
J.-C. CAYROL. — Influence de la température au cours de l'embryogenèse sur l'éclosion des œufs de <i>Ditylenchus myceliophagus</i> J.-B. GOODEY, 1958	7
G. IPERTI, Y. LAUDÉHO. — Les entomophages de <i>Parlatoria blanchardi</i> TARG. dans les palme- raies de l'Adrar mauritanien. — I. Études biologiques et écologiques préliminaires. Pers- pectives d'acclimatation de nouveaux prédateurs <i>Coccinellidae</i>	17
G. GIANNOTTI, G. DEVAUCHELLE. — Lésions cellulaires dues à des mycoplasmes liés à la phyllo- die du trèfle chez la cicadelle vectrice <i>Euscelis plebejus</i> FALL.	31
Y. ROBERT. — Premières observations sur la biologie de <i>Capitophorus horni</i> BÖRNER (<i>Homop- tera: Aphididae</i>) dans l'ouest de la France	39
J.-C. ONILLON. — Étude du complexe parasitaire <i>Trioza urticae</i> L. (Homoptère, <i>Psyllidae</i>) <i>Tetrastichus upis</i> WALK. (Hyménopt. <i>Tetrastichidae</i>)	55
<i>Mise au point bibliographique.</i>	
M. PUSSARD. — La membrane des Protozoaires, organe de l'excitabilité et de l'ingestion	67
<i>Informations</i>	99

CONTENTS

E. BILIOTTI. — <i>Foreword</i>	5
J.-C. CAYROL. — The influence of temperature during embryogenesis on the hatching of <i>Dity- lenchus myceliophagus</i> eggs	7
G. IPERTI, Y. LAUDÉHO. — Entomophagous insects of <i>Parlatoria blanchardi</i> TARG. in the palmgrove of the mauritanian Adrar. — I. Biological and ecological studies. Acclima- tation projects of new predators (<i>Coccinellidae</i>)	17
G. GIANNOTTI, G. DEVAUCHELLE. — Cell-injuries due to mycoplasma caused by the vector of clover phyllody, the leafhopper <i>Euscelis plebejus</i> FALL.	31
Y. ROBERT. — First observations on the biology of <i>Capitophorus horni</i> BÖRNER (<i>Homoptera: Aphididae</i>) in western France	39
J.-C. ONILLON. — Research on the parasitic complex <i>Trioza urticae</i> L. (Homopt. <i>Psyllidae</i>) <i>Tetrastichus upis</i> WALK. (Hymenopt. <i>Tetrastichidae</i>)	55
<i>Review</i>	
M. PUSSARD. — The membrane of Protozoa, the organelle giving rise to excitability and ingestion	67
<i>Informations</i>	99